

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
FAKULTA TEXTILNÍ



# BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Liberec 2012

Jakub Erben

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
FAKULTA TEXTILNÍ  
KATEDRA NETKANÝCH TEXTILIÍ



Studijní program: B3107 - Textil  
Studijní obor: Netkané textilie

VÝVOJ A TESTOVÁNÍ TECHNOLOGIE  
PRO POKRÝVÁNÍ TŘÍDIMENZIONÁLNÍCH  
STRUKTUR NANOVLÁKNY

DEVELOPMENT AND TESTING OF TECHNOLOGY  
FOR COVERING OF THREE DIMENSIONAL  
STRUCTURES BY NANOFIBERS

Autor:	Jakub Erben
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Petr Mikeš, Ph. D.
Konzultant:	Ing. Jiří Chvojka

Počet stran textu:	68
Počet obrázků:	45
Počet tabulek:	6
Počet grafů:	4

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Vývoj a testování technologie pro pokrývání tří dimenzionálních struktur nanovlákný

Development and testing of technology for covering of three dimensional structures by nanofibers

(Bude vloženo)

Zásady pro vypracování

- 1 Vypracování rešerše na dané téma
- 2 Příprava a výroba modelu chlopně metodou rapid prototyping, volba vhodného materiálu.
- 3 Vývoj technologie pro pokrývání 3D struktur metodou řízeného ukládání polymerních nanovláken proudem vzduchu.
- 4 Studium adheze nanovláknenné vrstvy na vyrobený model chlopně.
- 5 Návrh a případné testování vyrobených vzorků v biologické laboratoři.

Seznam použité literatury

- [1] R. Feynmann et. al., Feynmanovy přednášky z fyziky 2, Fragment, Praha 2001
- [2] D. H. Reneker, H. Fong, Polymeric nanofibers, American Chemical Society, New York, 2006
- [3] D. Lukas, et. al., *Physical principles of electrospinning (Electrospinning as a nano-scale technology of the twenty-first century)*, Textile Progress, Taylor & Francis, Vol. 41, No2, 2009, 59-140, ISBN – 13: 978-0-415-55823-5
- [4] Y. Filatov, A. Budyka, V. Kyrychenko, Electrospinning of micro- and nanofibers, Begell House, 2007, New York.

## **Prohlášení**

Byl(a) jsem seznámen(a) s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

V Liberci, dne: 30. 5. 2012

---

Podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Děkuji především svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Petru Mikešovi Ph.D., a konzultantovi Ing. Jiřímu Chvojkovi za příkladné vedení, výbornou spolupráci, odborné rady a doporučení literatury k danému tématu. Děkuji též pracovníkům Katedry výrobních systémů, především Ing. Jiřímu Šafkovi za přípravu experimentálních modelů a pracovníkům Ústavu experimentální medicíny Akademie věd ČR.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá vývojem nového způsobu pokrývání třídimenzionálních struktur nanovláknů vycházejícího z technologie Nanospider™ a následným testováním vlastností vytvořených vláknenných vrstev. Práce klade důraz na ověření využitelnosti vláknenných vrstev v rekonstrukční medicíně. V teoretické části byla popsána technologie a vývoj výroby polymerních vláknenných vrstev třemi vybranými metodami. Dále byl zpracován přehled biodegradabilních polymerů a nastíněna problematika oboru tkáňového inženýrství. Experimentální část obsahuje popis vývoje a optimalizace technologie nafoukávání nanovláken a přípravu modelů pro tento proces. V této části je také popsán vliv použitého polymerního materiálu a technologických podmínek na strukturu vláknenné vrstvy a její následné testování.

## **ANOTTATION**

This thesis described the development a new method of covering three dimensional structures by nanofibers based on the Nanospider technology, and then testing the properties of the fibre layers created. The work emphasizes the verification of usability of fiber layers in reconstructive medicine. In theoretical part has been described technology and development of the production of fibrous polymer layers by three selected methods. And next was also prepared an overview of biodegradable polymers and outlined the issues the field of tissue engineering. The experimental part describes the development and optimization of technology of blowing nanofibers and preparation of models for this process. This section also describes the influence of the used polymeric material and technological conditions on the structure of the fiber layer and its subsequent testing.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Elektrostatické zvlákňování, scaffold, tkáňové inženýrství, polymerní vláknenné vrstvy, povrstvování.

## **KEY WORDS**

Electrospinning, scaffold, tissue engineering, polymer fibre layers, coating.

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CHCl <sub>3</sub>	chloroform
f	frekvence [ot./min]
kV	kilovolt
ml	objemová jednotka; mililitr; dle SI 1x10 <sup>-3</sup> l
nm	délková jednotka; nanometr; dle SI 1x10 <sup>-9</sup> m
PCL	polykaprolakton
PGA	kyselina polyglykolová
PGS	polyglycerol sebacetát
PLA	kyselina mléčná
PLGA	poly (D,L-mléčná-ko-glykolická kyselina)
PLLA	poly (L-mléčná) kyselina
PVA	polyvinylalkohol
PVC	polyvinylchlorid
PUR	polyuretan
SEM	skenovací elektronový mikroskop
3D	struktura v třech dimenzích X x Y x Z
Σ	suma
% hm.	hmotnostní procenta v roztoku
°C	stupeň celsia

# Obsah

1. ÚVOD.....	10
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	11
2.1. Časový vývoj výroby polymerních vlákenných vrstev .....	11
2.1.1. Historie .....	11
2.1.2. Současný stav .....	13
2.1.3. Budoucnost .....	15
2.2. Termické technologie výroby polymerních vlákenných vrstev .....	16
2.2.1. Popis technologie melt-blown .....	16
2.2.2. Popis technologie spun-bond.....	17
2.3. Nanovlákná a elektrostatické zvlákňování .....	20
2.3.1. Vlastnosti a použití nanovláken .....	20
2.3.2. Princip elektrostatického zvlákňování .....	20
2.3.3. Zařízení pro tvorbu jednotlivých nanovláken nebo jejich svazků .....	22
2.3.4. Princip technologie Nanospider™ .....	24
2.4. Polymerní materiály .....	25
2.4.1. PLA – kyselina polymléčná .....	25
2.4.2. PGA – kyseliny polyglykolová .....	26
2.4.3. PLGA – kopolymer kyseliny polymléčné a kyseliny polyglykolové.....	26
2.4.4. PCL – Polykaprolakton.....	27
2.4.5. PVA - polyvinylalkohol.....	28
2.5. Scaffoldy pro tkáňové inženýrství .....	29
2.5.1. Tkáňové inženýrství.....	29
2.5.2. Zásady přípravy scaffoldů .....	30
2.5.3. Netextilní způsoby přípravy scaffoldů.....	31
2.5.4. Textilní způsoby přípravy scaffoldů.....	32
3. PRAKTICKÁ ČÁST .....	34
3.1. Příprava modelu .....	34
3.1.1. Popis předlohy.....	34
3.1.2. Výroba formy .....	35
3.1.3. Výroba modelu.....	37
3.2. Návrh modelu chlopně pro technologii rapid prototyping .....	39
3.2.1. Scannování geometrie.....	39
3.2.2. Digitalizace .....	41



3.2.3.	Návrh modelu pro metodu Rapid prototyping .....	42
3.3.	Vývoj a testování technologie .....	43
3.3.1.	Návrh technologie .....	43
3.3.2.	Testování .....	46
3.4.	Příprava vzorků .....	50
3.4.1.	Materiál .....	50
3.4.2.	Spinnery .....	50
3.4.3.	Postup přípravy .....	51
3.5.	Měření strukturních vlastností .....	54
3.5.1.	Testovací vzorky .....	54
3.5.2.	Použitá zařízení .....	54
3.5.3.	Postup měření .....	55
3.5.4.	Výsledky .....	57
3.6.	Testy buněčné adheze .....	59
3.6.1.	Použitý buněčný materiál .....	59
3.6.2.	Kultivace a nasazení buněk .....	59
3.6.3.	Příprava buněk pro konfokální mikroskopii .....	60
4.	DISKUSE .....	62
5.	ZÁVĚR .....	64
6.	POUŽITÁ LITERATURA .....	66

# 1. ÚVOD

V dnešní době zažívá výroba netkaných textilií dynamický vývoj zaměřený na tvorbu polymerních vlákných vrstev a jejich začleňování do nanotechnologické sféry. Tento fakt podporuje více faktorů. Prvním je zvyšující se poptávka po relativně levných a funkčních produktech pro průmyslové aplikace. Druhým faktorem je potřeba nových struktur a materiálů pro nově vyvíjené speciální aplikace v mnoha oborech lidské činnosti týkajících se medicíny, elektrotechniky, filtrace a dalších. To podněcuje stále další vývoj používaných materiálů a především nových speciálních technologií nanášení nanovláken na stále rozmanitější tvary a materiály za specifických podmínek.

Velmi zajímavou a perspektivní oblastí využití nových technologií ukládání nanovláken je tkáňové inženýrství, které se zabývá vytvářením vhodných tkáňových nosičů (scaffoldů). Jedná se tedy o vytvoření co možná nejpodobnější buněčné struktury tkáně, která podporuje vhodnou biologickou aktivitu dodaných funkčních buněk in vivo, jež postupně nahrazují poškozenou nebo chybějící tkáň neschopnou vlastní regenerace. Jednou z cest jak tyto nosiče připravit je elektrostatickým zvlákňováním biodegradabilních polymerů, kdy je výsledná struktura velmi podobná extracelulární matici tkáně. Narážíme zde ovšem na technické problémy při pokrývání složitějších třídímenzionálních tvarů předloh v kombinaci s jejich nevodivým materiálem, které se dají využít jako podpůrný prvek vytvořeného nosiče při jeho zvýšeném mechanickém namáhání in vivo. Ideálním příkladem takovéto aplikace jsou cyklicky namáhané srdeční chlopně.

Cílem této práce je vývoj technologie pokrývání třídímenzionálních struktur elektrostaticky zvlákněnými nanovláknami. Tento proces bude realizován řízeným proudem vzduchu. Dalším krokem bude výroba vhodného modelu trojcípé srdeční chlopně, jeho pokrytí nanovláknami pomocí navržené technologie a následné ověření využitelnosti pro tkáňové inženýrství. Tato využitelnost bude testována pomocí stereologických a biologických metod za užití elektronové mikroskopie a bioreaktoru.

## **2. TEORETICKÁ ČÁST**

Hlavním cílem této práce je tvorba polymerních vlákných vrstev, proto se převážná část rešerše bude věnovat nejen elektrostatickému zvlákňování, které bude využito v praktické části ale také průmyslově nejvýznamnějším technologiím tvorby polymerních vlákných vrstev. Jedná se o termické metody, konkrétně spun-bond a melt-blown. Dále bude pojednáno o biodegradabilních polymerních materiálech a základech tkáňového inženýrství.

### **2.1. Časový vývoj výroby polymerních vlákných vrstev**

V této kapitole bude popsán historický vývoj, současný stav a prognózy budoucího vývoje technologie tvorby polymerních vlákných vrstev dvěma nejběžnějšími metodami. Jedná se o metody spun-bond, jež zaujímá dominantní postavení v objemové produkci polymerních vlákných vrstev, a melt-blown, která je zástupcem produktivní tvorby vrstev o submikronových rozměrech. Tyto dvě metody zaujímají téměř dvě třetiny objemu současné světové produkce netkaných vlákných polymerních vrstev. Dále bude pojednáno o historickém vývoji, současném stavu a budoucnosti metody elektrostatického zvlákňování polymerů, ze které vychází celá experimentální část této práce.

#### **2.1.1. Historie**

Vznik a rozvoj výroby polymerních vlákných vrstev netradičními termickými a chemickými metodami odstartoval v padesátých letech minulého století z důvodu zvyšujících se požadavků trhu o nové speciální materiálové aplikace, a potřeby plošných vlákných textilních útvarů vyrobených levnějšími a produktivnějšími metodami. Další aspekt, který tomuto procesu předcházel a umožnil zrod těchto metod, byl v první polovině dvacátého století rozmach makromolekulární chemie a vyvíjení stále nových polymerních materiálů.[4]

#### **Technologie melt-blown**

Základní technologie výroby vlákných vrstev metodou melt-blown byla vyvinuta v Námořní výzkumné laboratoři pod záštitou americké vlády na počátku padesátých let minulého století.

Tento výzkum byl zahájen z důvodu získání vhodné technologie pro výrobu média zachycujícího radioaktivní částice v horních vrstvách atmosféry. První použitelné laboratorní výrobky spatřily světlo světa roku 1954 a byly využity pro monitorování světového jaderného výzkumu. Byly vyrobeny vzduchem dluženým extrudovaným polypropylenem procházejícím přes jednu kapiláru. Díky velmi uspokojivým výsledkům dosavadního výzkumu se v polovině roku 1960 ujala dalšího vývoje nová pobočka ropné společnosti Exxon. O pět let později firma patentovala úspěšný prototyp desetipalcového zařízení pro průmyslovou výrobu mikrovláken, které dodnes nedoznalo převratných změn v konstrukci. Výraznějšímu rozvoji, průmyslové výroby mikrovláken technologií melt-blown, brzdily v sedmdesátých letech nedostatečně produktivní postupy výroby termoplastických polymerů s vyšším indexem toku. Tato skutečnost se změnila v průběhu osmdesátých let vyvinutím katalytických postupů výroby polymerů.[1] Do roku 2000 Exxon vyvinul a patentoval většinu výrobních technologií systému melt-blown. Na přelomu tisíciletí vstoupilo na technologickou scénu více firem vyvíjející nové technologické modifikace, například firma 3M s patenty na výrobu směsi mikrovláken s běžnými textilními vlákny.[2]

### **Technologie spun-bond**

Roku 1950 zahajuje ve Spojených státech firma Dupond vnitřní vývoj technologie pro vertikální nanášení polymerního filamentu. Naplňuje tak snahu pokrýt zvyšující se potřebu plošných textilních útvarů efektivnější a levnější metodou.[2]

V roce 1960 vyvíjí Dupond technologii elektrostatického formování polymerních vláken. O osm let později vytváří firma Freudenberg první zařízení dlužící filament pomocí gravitační síly z polymerní taveniny přes trysku, který je ukládán ve formě dodatečně nepojené vláknenné vrstvy. V tomto období začíná vyvíjet společnost Kimberly-Clark vlastní verzi technologie. V roce 1974 patentuje společnost Asahi revoluční zařízení pro tvorbu dodatečně pojeného polymerního rouna (US Patent č. 3 202 817).[5] Dva roky na to vyvíjí Kimberly-Clark technologii SMS. V osmdesátých letech minulého století přichází souběžně s vývojem nových metod výroby polymerů na trh spun-bond zařízení pro průmyslovou tvorbu pojené vláknenné vrstvy s aktivním odtahem filamentu vycházející z patentu Asahi.

Na počátku devadesátých let Amoco dodala na trh spun-bond linku s odstředivě rotačním ukládáním vláken. Od roku 1990 do roku 2000 představily většinu nových modifikací firmy Corovin a Hills. Jedná se například o linky na výrobu bikomponentních vláken.[2]

### **Technologie elektrostatického zvlákňování**

První významnější základy elektrostatického zvlákňování položil v roce 1914 John Zeleny působící na Minnesotské univerzitě. Zeleny vyvinul jednoduchý spinner vycházející z pokusů mnicha Williama Gillberta, který na počátku 17. Století pozoroval pohyb kapky vody směrem k nabitě ebonitové tyči. [3] V letech 1934 – 1944 patentoval Anton Formhals několik zařízení na výrobu polymerních vláken z polymerního roztoku, které využívaly elektrostatických sil. Formhals pracoval především s roztokem acetátu celulózy.[6,7] V roce 1964 Taylor pozoroval při svých výzkumech vlivu homogenního elektrického pole na hladinu vody emisi částic, které předcházely vzniku dokonalého kónusu kapaliny vystupujícího z hladiny. Vznikající kónický útvar byl po svém objeviteli pojmenován Taylorův kužel.[3] O rok později vyvinul Simons zařízení na výrobu velmi jemných vláken a popsal vliv koncentrace polymerního roztoku na jejich zvlákňování. Do konce tisíciletí následovalo mnoho dalších patentů, mimo jiné například přístroj na výrobu akrylátových vláken či takzvaný drátový stroj. Všechny tyto metody byly spíše laboratorního charakteru a neumožňovaly průmyslovou výrobu. Až v roce 2001-2004 na katedře netkaných textilií fakulty textilní Technické univerzity v Liberci vyvinul tým profesora Jirsáka přístroj určený k průmyslové výrobě nanovláken nazvaný Nanospider.[15]

#### **2.1.2. Současný stav**

V současnosti zasahují produkty chemicko-termických technologií výroby polymerních vlákenných vrstev do mnoha průmyslových odvětví a jejich poptávka neustále stoupá, a to zejména u termických technologií pro jejich vysokou výrobnost a finální nízkou cenu produktu. Z tohoto důvodu vznikají v dnešní době stále nové výrobní linky po celém světě.

## **Technologie melt-blown**

Technologie melt-blown produkuje v současné době vlákenné vrstvy o plošné hmotnosti  $5 - 400 \text{ g/m}^2$  při vysoké variabilitě průměru vláken v rozsahu  $0,5 - 20 \text{ }\mu\text{m}$ . [4] Rychlosti odtahu vlákenné vrstvy dosahují v současné době hodnoty až  $1000 \text{ m/min}$  při šíři až  $2\text{m}$ . [9] Vlákná mají délkou od několika milimetrů po několik set milimetrů při hladkém kruhovém průřezu. Produkty se vyznačují vysokým faktorem krytí, měrným povrchem, vysokou pórovitostí a retenčními vlastnostmi při nižší až střední pevnosti vlákenné vrstvy. Využívají se jako filtrační média, zdravotnické textilie, průmyslové sorbenty a hygienické výrobky. Zvlákňovány jsou všechny termoplasty s IT nad 30, například polyetylen a polypropylen. Úspěšně je využívána technologie výroby bikomponentních vláken. [9]

## **Technologie spun-bond**

Spun-bond vlákenné vrstvy se vyznačují plošnou hmotností  $10 - 150 \text{ g/m}^2$  při běžných průměrech vláken v řádech desítek až stovek  $\mu\text{m}$ . [4] Rychlost odtahu dosahuje podobně jako u technologie melt-blown rychlosti mírně přesahující  $1000 \text{ m/min}$  ovšem při šíři až  $4\text{m}$ . [9] Vlákná vrstva z nekonečných polymerních vláken se vyznačuje vysokou propustností vzduchu, dobrými mechanickými vlastnostmi v obou směrech a příjemným omakem. Produkty jsou využívány převážně ve stavebnictví, hygieně, zemědělství a filtraci. Opět lze zpracovat všechny druhy termoplastů a nově i některé druhy elastomerů při běžné hodnotě IT. I v této technologii se prosazuje nový způsob výroby bikomponentních vláken. [14]

## **Technologie Elektrostatického zvlákňování**

Způsob výroby polymerních nanovlákných vrstev elektrostatickým zvlákňováním technologií Nanospider je z popisovaných tří metod nejméně produktivní. Odtahová rychlost se podle druhu použitého materiálu a požadovaného průměru vláken pohybuje maximálně kolem  $10 \text{ m/min}$  při efektivní šíři maximálně  $1,6\text{m}$ . Vlákná vrstva se vyznačuje velmi vysokou pórozitou a specifickým povrchem při velmi malém průměru vláken  $50 - 300 \text{ nm}$  a velmi dobré homogenitě. Se svými unikátními vlastnostmi je využívána jako filtrační médium, déle v biomedicině a elektrotechnice. Zpracovávají se všechny druhy termoplastů s IT nad 100. [14]

### 2.1.3. Budoucnost

Budoucí uplatnění technologie melt-blown závisí především na zdokonalení homogenity vlákenné vrstvy při velkém obsahu vláken o submikronovém průměru. Jestliže se podaří vyvinout výrobní linky zaručující především dostatečnou homogenitu, nahradí technologie melt-blown plně technologii elektrostatického zvlákňování v průmyslové výrobě filtračních médií a v dalších odvětví průmyslové výroby, kde není požadována příprava polymerního materiálu studenou cestou. Rychlost odtahu a šíře vlákenné vrstvy se bude zvyšovat s ohledem na limity mechanického namáhání jen mírně. Dalším faktorem je samozřejmě použití nových materiálů a zdokonalení výroby bikomponentních vláken.[16]

Naproti tomu, technologie elektrostatického zvlákňování bude při naplnění vývojových prognóz technologie melt-blown nalézat uplatnění v průmyslové výrobě pouze pro speciální aplikace a pro aplikace vyžadující velmi dobrou homogenitu vlákenné vrstvy. Jedná se například o medicínské aplikace a tkáňové inženýrství, kde se vyžaduje příprava polymeru studenou cestou. Jinak bude z ostatních průmyslových odvětví technologie elektrostatického zvlákňování zcela vytlačena. Tento fakt také podporuje v porovnání s jinými technologiemi velmi malá výrobnost. Samozřejmě bude elektrostatické zvlákňování využíváno díky své nižší pořizovací ceně a variabilitě v laboratořích a experimentálních provozech.[16]

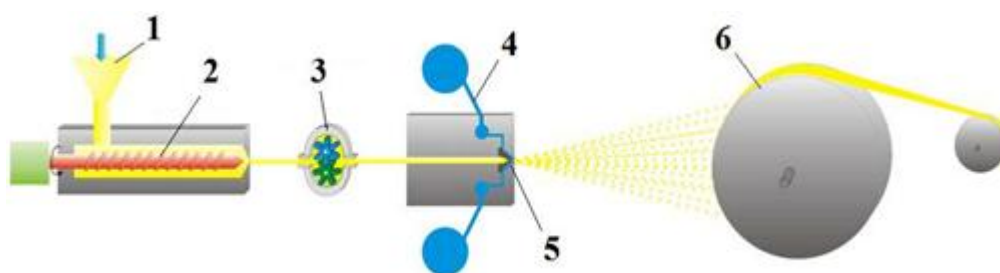
V technologii spun-bond se v budoucnu nepředpokládají velké vývojové změny. Šířka odtahu se s ohledem na limity mechanického namáhání měnit nebude a rychlost odtahu se bude měnit spíše jen u speciálních aplikací. Budoucnost této technologie tkví v její velké výrobnosti a použití nových zvlákňovaných materiálů, například na bázi elastomerů.[14]

## 2.2. Termické technologie výroby polymerních vláknenných vrstev

### 2.2.1. Popis technologie melt-blown

Technologie melt-blown je odborně popsána ve zdroji [9]. Podle běžně přijímané definice je melt-blown proces, ve kterém se proudem vzduchu poměrně vysokou rychlostí fouká roztavený polymer vytlačovaný zvlákňovací tryskou extruderu na perforovaný sběrný pás či buben. Na sběrném segmentu se již vytvořená vlákna formují a částečně pojí do vláknenné vrstvy, která je dále odvíjena (viz. obr. 1).[4]

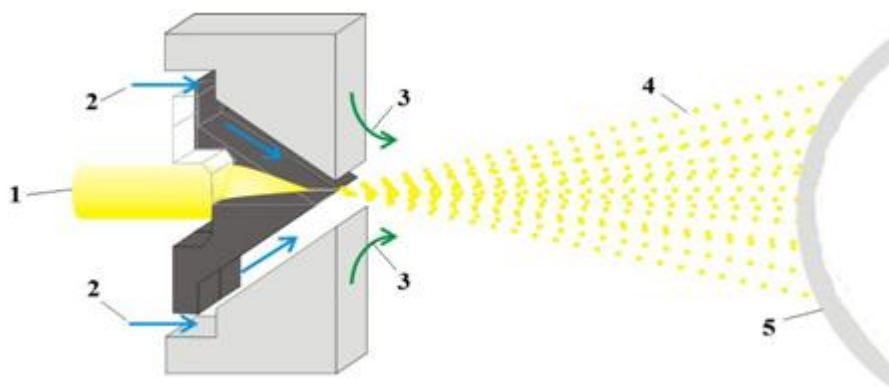
Na počátku procesu polymer prochází extrudérem, který se skládá z vyhřívaného válce s rotujícím vytlačovacím šnekem uvnitř. Extrudér je vyhříván třemi až čtyřmi ohřívači v přírůstkovém pořadí. Jeho hlavní funkcí je roztavení polymeru vsypaného do válce ve formě pelet či granulí a jeho následné vytlačování přes trysku. Dopředný pohyb granulátu probíhá mezi stěnou válce a spirálovou drážkou vytlačovacího šneku. Tání granulátu v extrudéru je způsobeno výhřevným teplem, třením viskózního proudění a mechanickým působením mezi šnekem a stěnou válce.[8] Poté prochází polymerní tavenina přes dávkovací čerpadlo, které usměrňuje jeho další tok při konstantním objemu, tlaku a teplotě, což je nezbytné pro konzistentní přísun taveniny do zvlákňovací hubice. Čerpadlo je obvykle zubové, s dvěma protiběžnými ozubenými koly. Tavenina je přiváděna sací stranou k zubovým mezerám. Z distribučního kanálu za zubovým čerpadlem putuje tavenina přímo ke zvlákňovací hlavici. Hlavice má tvar dlouhé duté kovové lišty trojúhelníkového profilu s několika sty malými kruhovými otvory na jeho špici. Z těchto otvorů vytlačovaná tavenina tvoří vláknenné prameny, které jsou následně formovány horkým vzduchem na jemná vlákna. V porovnání s jinými technologiemi jdou otvory v hlavici malého průměru – nejčastěji 0,4 mm s roztečemi 1 – 4 mm.[9]



Obr. 1: Schéma procesu Melt-blown: 1- extrudér, 2- plnicí šnek, 3- dávkovací čerpadlo, 4- vzduchové rozvody, 5- zvlákňovací hubice, 6- kolektor, převzato z [10].



Existují dva druhy zvlákňovací hlavice. Dělí se podle technologie výroby otvorů na kapilární typ a typ s vrtanými otvory. U kapilárního typu je hlavice rozdělena na dvě části, jejichž dělicí rovinou je podélná středová osa otvorů.[4] Do každé poloviny je na styčné ploše vyfrézována řada půlkulatých drážek. Obě poloviny jsou slícovány tak, aby tvořily ideální kruhové otvory. U vrtaného typu jsou vyrobeny otvory pomocí mechanického vyvrtávání, nebo pomocí elektrického výboje technologií EDM. Zvlákňovací hlavice je vyhřívána externím ohříváčem na provozní teplotu v rozsahu 215 – 340°C. Roztavený polymer je po vytlačení ze zvlákňovací hlavice formován horkým vzduchem, který vychází přes otvory v dolní a horní části hlavy (viz obr. 2). Z důvodu ohřevu vzduchu se jedná o energeticky náročný proces. Rychlost vzduchu vytváří kompresor a ohřev zajišťuje elektricky nebo plynově vytápěná pec. Typická teplota předehřátého vzduchu je 230-360°C při rychlosti 180-270 m/s. Vlákně je s rostoucí délkou unášeno vzrůstající silou, nepravidelně dlouženo a odtrháváno. Unášená vlákna následně ulpívají a úplně tuhnou na perforovaném sběrném kolektoru. Ulpívání vláken na kolektoru je podpořeno vytvořeným podtlakem vně válce. Vlákněná vrstva je většinou pojena pouze samotnou soudržností vláken, nebo je pojena termicky.[8]

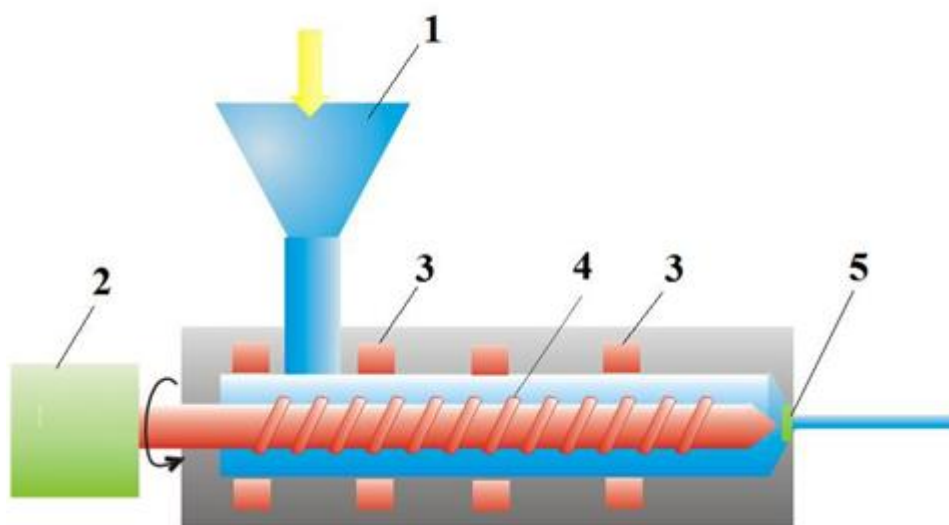


*Obr. 2: Proces melt-blown zvlákňování: 1- polymerní tavenina, 2- horký vzduch, 3- studený vzduch, 4- proud dloužených vláken, 5- kolektor, převzato z [10].*

### **2.2.2. Popis technologie spun-bond**

Technologie spun-bond je odborně popsána ve zdroji [13]. Podstata výroby technologie spun-bond spočívá v přímém zvlákňování nekonečných vláken – filamentů z polymerní taveniny, která je vytlačována extruderem přes trysku. Vytlačená vlákna jsou ochlazována, různými způsoby dloužena a ukládána na perforovaný dopravníkový pás v podobě vlákněné vrstvy.[4]

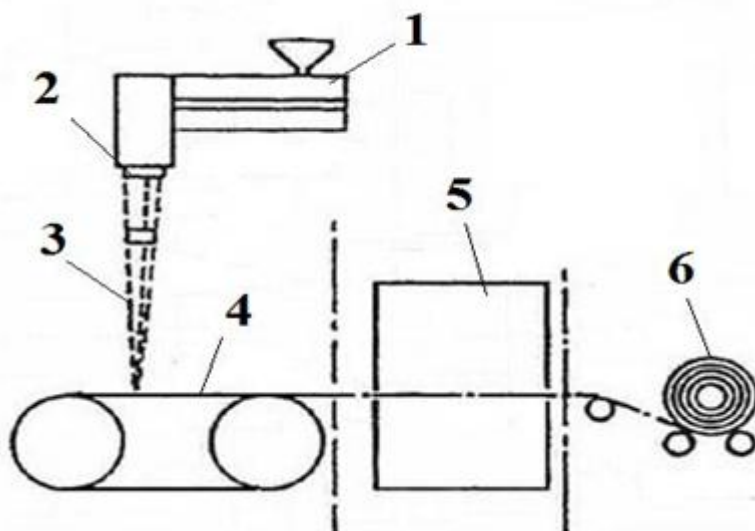
Příprava polymerní taveniny v technologii spun-bond je téměř totožná jako u technologie melt-blown, kdy polymer ve formě pelet nebo granulí prochází extruderem složeného z válce vyhřívaného čtyřmi ohřívači v přírůstkovém pořadí a šneku rotujícího v podélném směru. Pohyb tavicího se polymeru zajišťuje rotující, vhodně tvarovaný šnek (viz obr 3).[11] Roztavený polymer se filtruje přes zařízení z 15 – 25 vrstev ocelových sít tkaných z jednotlivých drátků s definovanými rozměry otvorů. Velikost jednotlivých otvorů se pohybuje v rozmezí 5 – 20  $\mu\text{m}$ . Filtrace je zde velmi důležitá, pevné nečistoty a částice by mohly způsobit ucpání trysek či přetrhávání vláken. Dále se tavenina dostává do dávkovacího zubového čerpadla, které má na starosti průtok taveniny za konstantního objemu a rychlosti. Následné vytlačení polymerní taveniny probíhá přes zvlákňovací trysky v podobě perforované plechové lišty trojúhelníkového profilu. Tento blok je perforován po celé délce „nosu“. Většina současných spun-bond linek obsahuje několik tandemově řazených zvlákňovacích bloků.[12]



Obr. 3: Schéma tavného extrudéru: 1- násypka polymerního granulátu, 2- motor, 3- externí ohřívače, 4- vytlačovací šnek, 5- filtr, převzato z [10].

Zvlákňování se provádí do chladicí šachty, kde se paprsky taveniny proudící z trysek ochlazují proudem vzduchu, tím se ochladí na teplotu nižší než je teplota tání polymeru a tuhnou. Výsledkem je nedloužené vlákno, které je v nestabilním stavu s malou orientací řetězců a v čase velmi rychle křehne. Následuje odtah vláken a s ním spjaté dloužení, což je tahová deformace vlákna, při níž se orientace řetězců a polymerních segmentů vyrovná do směru osy vlákna.

Odtah může být prováděn pouze gravitační silou, proudem vzduchu nebo galetami.[11] Vydloužené filamenty jsou ukládány na pohybující se pás v podobě perforovaného drátěného síta, pod nímž je uměle vyvoláván podtlak. Aby byla zajištěna rovnoměrnost vlákenné vrstvy, je třeba dloužené svazky vláken ojednotit. Toho lze dosáhnout několika způsoby. Prvním je elektrostatický způsob, kdy lze vlákenný svazek elektrostaticky nabýt při dostatečném napětí (cca 30kV). Dále aerodynamický, využívající proudu vzduchu vytvořeného podtlakem pod odtahovým pásem. Další způsob je mechanický, založený na použití rotačního deflektoru, který udělí vláknům rotaci zajišťující jejich dostatečné ojednocení a rovnoměrné ukládání ve smyčkách. Poslední způsob je použití bloku, jež zvlákňuje v plné šíři. Vytvořená vlákenná vrstva se dále pojí slepením neúplně vychlazených vláken, chemickým a termickým pojením nebo vpichováním. Konečná operace představuje ořezávání a navíjení zpevněné vlákenné vrstvy.[13]

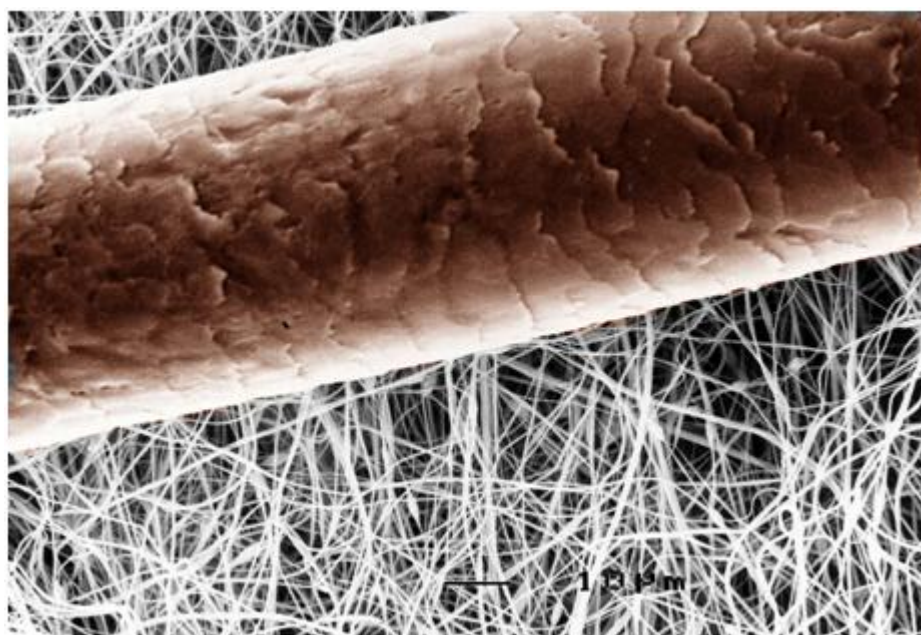


Obr. 4.: Schéma procesu spun-bond: 1- extrudér, 2- zvlákňovací tryska, 3- odtah filamentu, 4- odváděcí pás, 5- pojení, 6- navíjení, převzato z [3].

## 2.3. Nanovlákná a elektrostatické zvlákňování

### 2.3.1. Vlastnosti a použití nanovláken

Pojmy nanovlákná a nanotechnologie vznikly v průběhu 20. století při dynamicky se rozvíjejícím vývoji technologií a nových vědních oborů. Nanovlákná lze definovat, jako vlákna o průměru menším než 1000 nm. Tato definice není zcela přesná - v tomto případě lze mluvit spíše o submikronovém rozměru. Lze říci, že touto cestou je možno vytvořit vlákna o průměru cca 100 nm. Teprve vlákna s průměrem pod 100 nm lze považovat za nanovlákná v pravém smyslu slova. Tato vlákna se vyznačují unikátními vlastnostmi, díky nimž se využívají v mnoha průmyslových aplikacích. Těmito vlastnostmi jsou velmi vysoký měrný povrch, vysoká pórozita, malý průměr pórů a velmi malý průměr vláken. Vláknenné vrstvy z těchto vláken se využívají jako filtrační média, separační membrány, ochranné oděvy, chemické nosiče, izolátory atd.

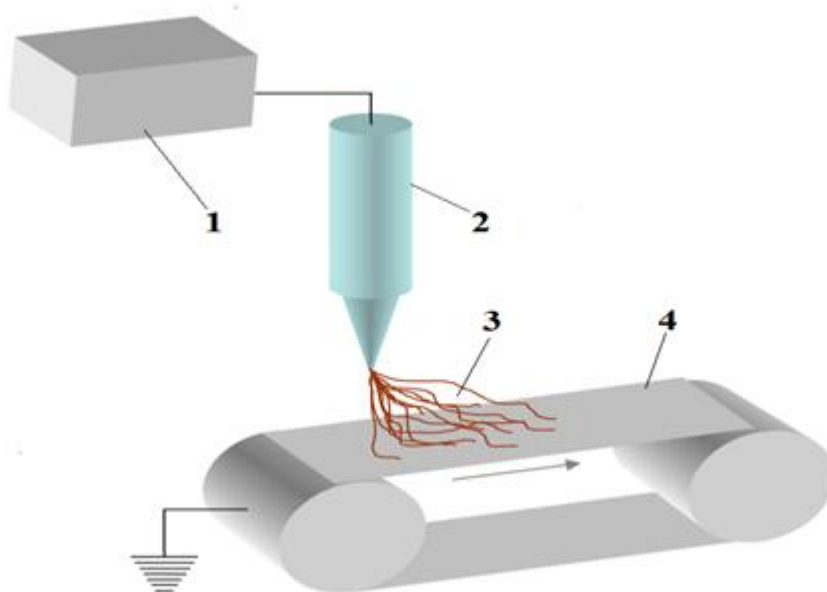


*Obr. 5: Nanovláknenná vrstva v porovnání s lidským vlasem, převzato z [10].*

### 2.3.2. Princip elektrostatického zvlákňování

Detailní popis technologie elektrostatického zvlákňování je uveden v [20]. Tento způsob výroby nanovláken je v porovnání s jinými způsoby (například melt blown) technologicky jednoduchý (viz. obr. 6). Proces elektrostatického zvlákňování využívá elektrostatické a mechanické síly pro vytáhnutí vlákna z polymerního roztoku či taveniny, nejčastěji však z roztoku.

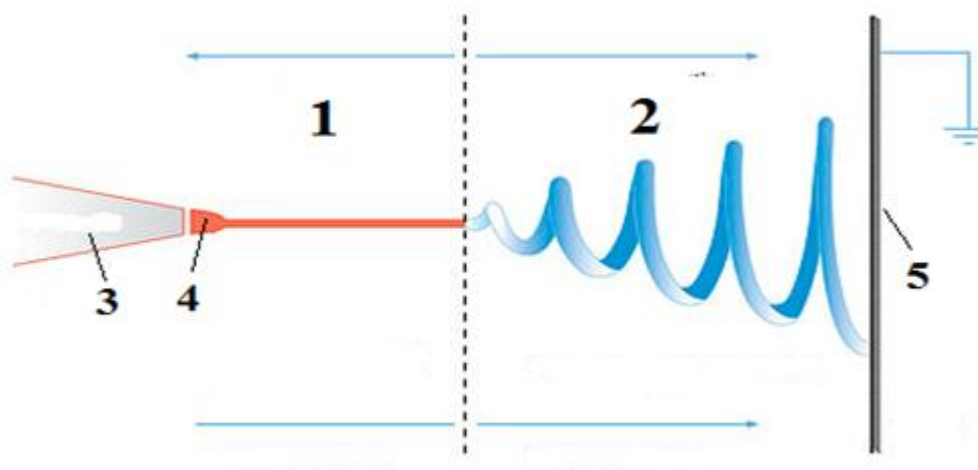
Kapilára, tryska nebo zvlákňovací kolektor je spojen s elektrodou vysokého napětí v řádech desítek kilovolt a polarizuje polymerní roztok [4]. Protipól v elektrostatickém poli tvoří vodivý sběrný kolektor v podobě desky, síta, kovového hrotu nebo válečku, který je uzemněn nebo připojen k opačně polarizované elektrodě vysokého napětí. Zdroj vysokého napětí vytváří elektrostatické pole formující elektricky nabitý polymerní roztok, který je následně zvlákněn [3]. Vlivem vysokého elektrického napětí a rozdílu elektrických potenciálů mezi polarizovaným polymerním roztokem a uzemněným kolektorem působí na polymerní roztok tři síly. Jde o sílu povrchového napětí, sílu kapilární a coulombovskou. Tyto síly formují takzvaný Taylorův kužel [18]. Jestliže intenzita elektrického pole dosáhne nadkritické hodnoty, záporná elektrostatická síla překoná povrchové napětí polymerního roztoku a následně je z Taylorova kužele vytažen velmi tenký proud roztoku. Vlivem viskozity polymerního roztoku a existence zapletených polymerních řetězců je proud stabilní a nedochází k transformaci do sférických kapek.[17,21]



*Obr. 6: Schéma obecného procesu elektrostatického zvlákňování z trysky:  
1- zdroj vysokého napětí, 2- tryska s polymerním roztokem, 3- proud nanovláken,  
4- uzemněný kolektor s nanovláknennou vrstvou, převzato z [10].*

Dráhu proudu polymerního roztoku mezi elektrodou a kolektorem můžeme rozdělit na dvě části (viz. Obr. 7.). První je stabilní oblast, ve které proud putuje přímočaře v silném elektrickém poli. Ve druhé, nestabilní oblasti, začne proud rotovat (bičovat) a zároveň se z něho odpařuje rozpouštědlo. V této fázi se polymerní proud dluží, štěpí a dále se mění na vlákna.

Průměr vláken se pohybuje v rozmezí 100 – 500 nm. Dopadající vlákna na povrchu kolektoru ztrácí zbytkový náboj a tvoří vláknennou vrstvu, která se v porovnání s jinými technologiemi výroby polymerních vláknenných vrstev vyznačuje vysokou homogenitou. Vysoká homogenita vzniklých vrstev je jednou z hlavních výhod technologie elektrostatického zvlákňování.[3,18]



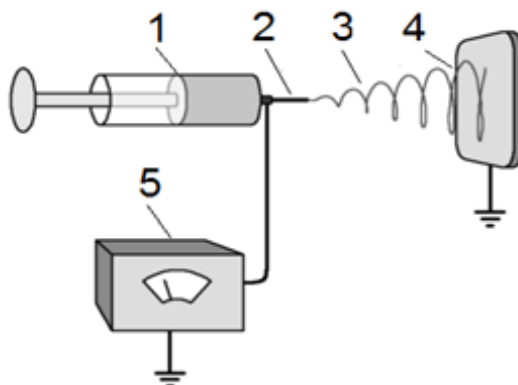
Obr. 7: Znáznornění proudění polymerního roztoku: 1- oblast stabilního proudu, 2 oblast nestabilního proudu, 3- tryska, 4- Taylorův kužel, 5- uzemněný kolektor, převzato z [10].

### 2.3.3. Zařízení pro tvorbu jednotlivých nanovláken nebo jejich svazků

Existuje několik variant zařízení, která produkují jednotlivá nanovlákna nebo nanovláknenné svazky. Tato zařízení se používají spíše pro laboratorní účely a liší se tvarem kolektoru, spinneru nebo způsobem použití elektrostatického pole a v některých případech rychlostí jeho otáčení. Tyto modifikace většinou ovlivňují strukturu a orientaci vláknenné vrstvy. Jsou známy tři základní principy elektrostatického zvlákňování: z kovového trnu, kapiláry a válečku. První dva principy budou stručně popsány níže. Třetí varianta zvlákňování z válečku bude popsána skrze technologii Nanospider<sup>TM</sup>, která z této varianty vychází.[4]

### Zvlákňování z kapiláry

Zařízení může být horizontální s ručním vytlačováním polymerního roztoku (viz. obr. 8) nebo s přídatnou lineární pumpou, kterou lze plyně regulovat množství vytlačovaného polymeru. Dále vertikální, kde je polymer vytlačován gravitační silou. Kapilára je připojena ke zdroji vysokého napětí.[20]

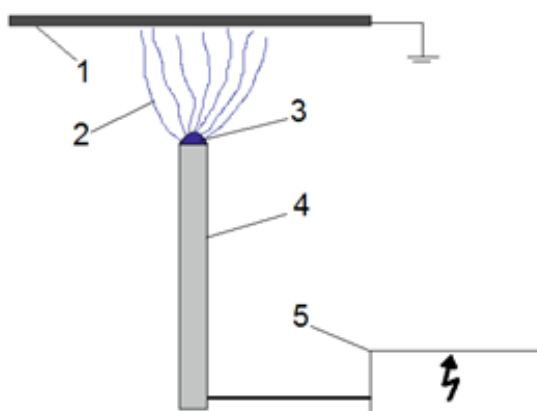


*Obr. 8: Schéma elektrostatického zvlákňování z kapiláry:*

*1- stříkačka s polymerním roztokem, 2- kapilára, 3- proud polymerního roztoku, 4- kolektor, 5- zdroj vysokého napětí, čerpáno z [3].*

### Zvlákňování z trnu

Základ technologie tvoří kovový trn připojený ke zdroji vysokého napětí a uzemněný kolektor ve tvaru kovové desky (viz. obr. 9). Kapka polymerního roztoku je dávkována na plochý vrchol tyčky. Při použití tohoto zařízení lze velmi dobře pozorovat vliv elektrostatického pole na polymerní roztok. Nevýhodou je rychlé vyčerpání roztoku a z toho plynoucí diskontinuita procesu.[20]



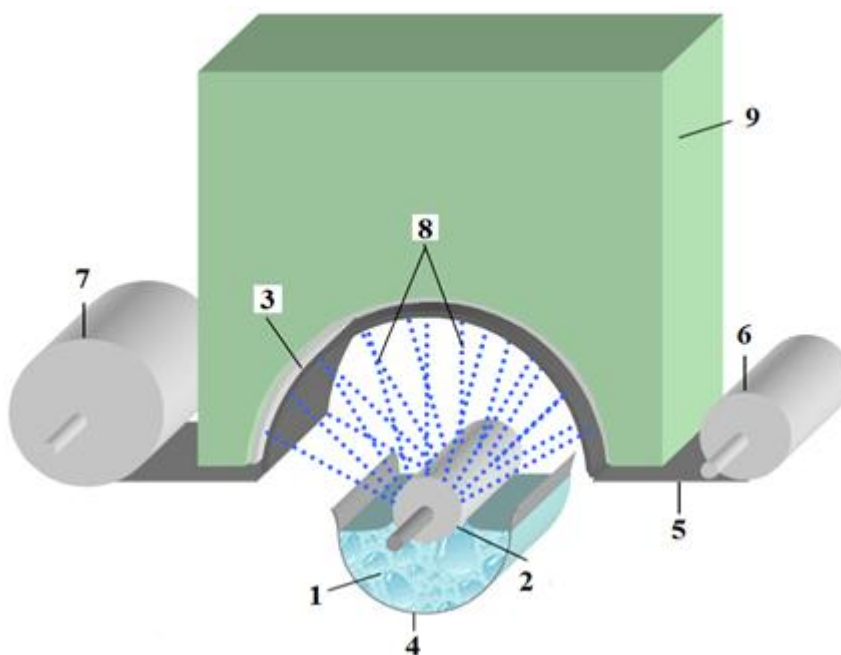
*Obr. 9: Schéma elektrostatického zvlákňování z trnu: 1- uzemněný kolektor, 2- proud polymerního roztoku, 3- kapka polymerního roztoku, 4- kovový trn, 5- zdroj vysokého napětí.*



### 2.3.4. Princip technologie Nanospider™

Technologie Nanospider™ umožňuje průmyslovou výrobu nanovláknenných vrstev. Byla vyvinuta katedrou netkaných textilií Technické univerzity Liberec. Detailní popis technologie je uveden v [19].

Technologie je založena na principu vybuzení Taylorových kuželů a následného proudu vláken pomocí elektrostatického pole z hladiny polymerního roztoku, kterou je v tomto případě tenký polarizovaný film. Kladná elektroda, v podobě kovového válce, se otáčí v radiálním směru částečně ponořená v polymerním roztoku, který je čerpadlem kontinuálně doplňován. Rotaci zajišťuje elektromotor s funkcí plynulé regulace otáček. Válec při svém otáčení vynáší tenkou vrstvu roztoku do své horní úvrati, kde je vyšší intenzita elektrostatického pole, které budí po celé jeho šíři v horní úvrati mnohočetná ohniska Taylorových kuželů a následný proud polymerních vláken. Proud vláken putuje v elektrostatickém poli směrem k záporně polarizovanému kolektoru v podobě podkladové textilie, která je kontinuálně odváděna (viz. obr. 10).[4]



*Obr. 10: Schéma zařízení Nanospider: 1- polymerní roztok, 2- spinner, 3- podkladová textilie, 4- nádrž, 5- vedení podkladové textilie, 6- navíjení, 7- odvíjení, 8- proud nanovláken, 9- plášť, převzato z [10].*



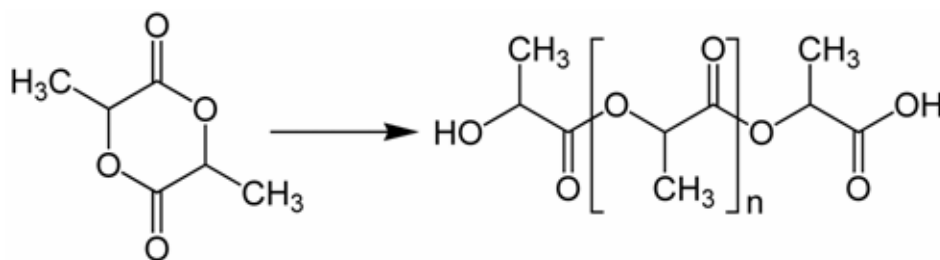
## 2.4. Polymerní materiály

V této kapitole bude pojednáno o biodegradabilních polymerech, které se s úspěchem využívají v rekonstrukční medicíně. Dále bude pojednáno o polyvinylalkoholu, který byl použit v experimentální části pro základní testování technologie.

Základní požadavky biomateriálů jsou jejich biokompatibilita, biodegradabilita a vhodné povrchové vlastnosti vhodné pro buněčnou adhezi. Běžné polymery, které obsahují v hlavním řetězci sigma uhlíkové vazby, nejsou vhodné pro svou nedostatečnou biodegradabilitu. Proto se používají materiály obsahující v hlavním řetězci heteroatom, který vhodnou biodegradabilitu zajišťuje nebo se vhodná biodegradabilita zajišťuje vhodnou chemickou modifikací polymeru za vzniku esterových vazeb. Biopolymery mohou být syntetické nebo přírodní, přičemž přednost se dává syntetickým polymerům, které se dají při výrobě vhodně modifikovat.[22]

### 2.4.1. PLA – kyselina polymléčná

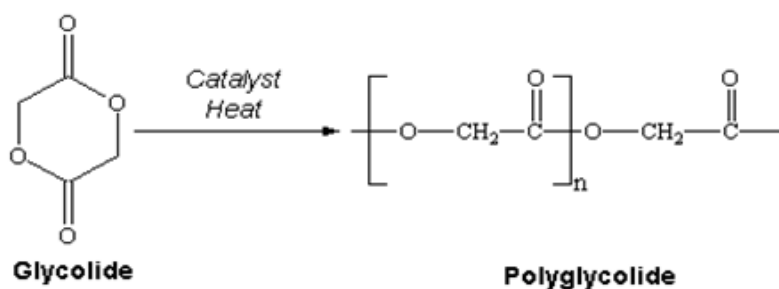
Kyselina polymléčná (PLA) je termoplastický alifatický polyester získávaný z obnovitelného přírodního zdroje, nejběžněji z kukuřičného škrobu. S ohledem na strukturní chiralitu kyseliny existují její dva stereoizomery L a D, které stáčí rovnu polarizovaného světla charakteristickými směry. Tyto stereoizomery obsahují naprosto stejné atomární vazby při rozdílné prostorové orientaci, která ovlivňuje mechanické a termické vlastnosti polymeru. Připravuje se bakteriální fermentací D-glukózy získávané z kukuřičného škrobu a následnou katalytickou polymerizací, která rozpojí hlavní cyklický řetězec D-glukózy za vzniku esterových vazeb (viz. obr. 11). Z 99,5 % je fermentací získávána pouze L forma (L-PLA), která je přibližně ze 40 % krystalická při teplotě skelného přechodu ( $T_g$ ) 60 – 65 °C a teplotě tání ( $T_f$ ) 175 °C. Tato forma vykazuje poměrně vysokou mechanickou pevnost v tahu při malém prodloužení. Doba desorpce této formy je přibližně 2 roky.[28] Tyto vlastnosti jsou vhodné pro využití L-PLA při výrobě trvalejších ortopedických nosných aplikací. Polymerizace směsi L a D formy vede k syntéze v DL-PLA formu, která je amorfni, méně pevná při tahovém namáhání ale výrazně rychleji se v těle desorbuje. Tento fakt vede k využívání této formy při vzniku nových tkáňových a lékových nosičů.[22]



Obr. 11: Katalitická polymerizace kyseliny mléčné (ring-opening), převzato z [28].

#### 2.4.2. PGA – kyselina polyglykolová

Kyselina polyglykolová (PGA) je biologicky odbouratelný termoplastický polymer patřící do skupiny nejjednodušších alifatických polyesterů. Strukturní vzorec obsahuje pouze jednu uhlovodíkovou skupinu. Je špatně rozpustný v organických rozpouštědlech s výjimkou hexafluoroizopropanolu. Tuto vlastnost způsobuje vysoká míra krystalinity, která se pohybuje v rozmezí 45-55 %. Nejběžnější postup přípravy PGA je katalytická polymerizace cyklického řetězce diesteru kyseliny glykolové, při kterém se hlavní řetězec rozpojí (viz. obr. 12). Teplota skelného přechodu ( $T_g$ ) se pohybuje v rozmezí 35-40 °C a teplota tání dosahuje 230 °C.[23] Degradace probíhá biologicky a hydrolyticky. Lékařský materiál z PGA ztrácí při užití původní pevnost do 2 týdnů, pevnost celkovou do 4 týdnů a plně desorbuje po 3 – 6 měsících v podobě kyseliny glykolové.[23]



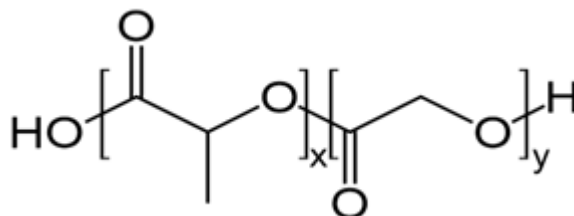
Obr. 12: Katalytická polymerizace řetězce diesteru kyseliny glykolové, převzato z [28].

#### 2.4.3. PLGA – kopolymer kyseliny polymléčné a kyseliny polyglykolové

Kopolymer kyseliny polymléčné a kyseliny polyglykolové (PLGA) je biodegradabilní alifatický polyester. Na rozdíl od svých stavebních homopolymerů

dobře rozpustný v široké škále polárních rozpouštědel. PLGA je syntetizován katalitickou polymerizací, při které jsou náhodně rozpojovány hlavní cyklické řetězce dimerů kyseliny glykolové a kyseliny mléčné za vzniku esterových vazeb.

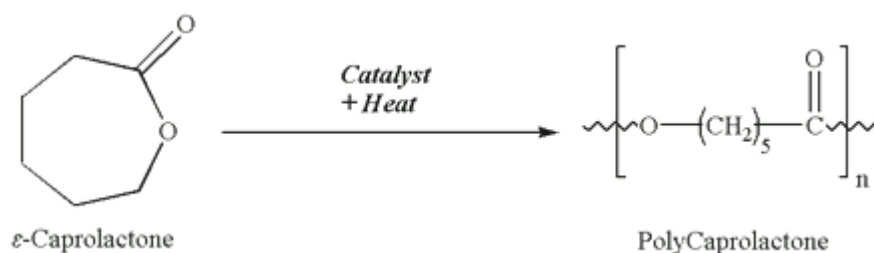
Kopolymer je při všech poměrech obsahu homopolymerů spíše amorfni a vykazuje teplotu skelného přechodu ( $T_g$ ) v rozmezí 40 – 60 °C. Vlastnosti kopolymeru nejsou lineárně závislé na poměru obsažených homopolymerů, například při koncentraci 50% PLA a 50% PLG degraduje kopolymer rychleji než jakákoliv ze samotných homopolymerů. PLGA je v těle hydrolyticky štěpen na kyselinu mléčnou a glykolovou, které jsou pro tělo vlastní. Díky všem těmto vlastnostem je používán pro výrobu chirurgických nití, tělních implantátů a protetických zařízení.[24]



Obr. 13: Strukturní vzorec kopolymeru PLGA, převzato z [28].

#### 2.4.4. PCL – Polykaprolakton

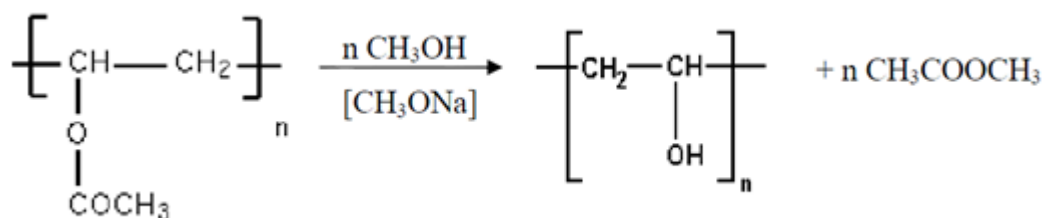
Polykaprolakton (PCL) je syntetický biodegradabilní polymer patřící do skupiny alifatických polyesterů. Je dobře rozpustný v polárních rozpouštědlech, například ve směsi chloroformu a etanolu. Přípravuje se katalytickou kondenzací  $\epsilon$  - kaprolaktonu, kdy je pomocí katalyzátoru rozpojen hlavní cyklický řetězec (viz. obr. 14.). PCL je polymer s teplotou skelného přechodu ( $T_g$ ) kolem -60 °C a nízkou teplotou tání ( $T_f$ ) 58 - 65 °C.[25] Díky svému chemickému složení a přítomnosti esterových vazeb může být PCL při hydrolytické degradaci v živém organismu vhodně asimilován a následně mineralizován. Vyznačuje se podobnou biokompatibilitou jako PLA, ovšem při mnohem nižší rychlosti desorpce. Tato skutečnost je způsobena tím, že lidské tělo neprodukuje takové extracelulární enzymy, které by katalyzovaly jeho degradaci. Tato skutečnost spolu s dobrými zpracovatelskými a mechanickými vlastnostmi předurčuje tento polymer pro použití v medicíně při tvorbě tkáňových nosičů nebo chirurgických nití. Dále se PCL používá jako přísada do pryskyřic a jiných polymerů, kde modifikuje jejich mechanické vlastnosti.[26]



Obr. 14: Katalitická polymerizace řetězce kaprolaktonu, převzato z [27].

#### 2.4.5. PVA - polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (PVA) je syntetický hydrofilní polymer patřící do skupiny vinylových polymerů. Tvoří jednoduchou chemickou strukturou, která obsahuje funkční hydroxylovou skupinu. Rozpustný je v polárních rozpouštědlech, například ve vodě. Připravuje se polymeranalogickou hydrolýzou nebo alkoholýzou polyvinylacetátu v methanolu za vzniku esterových vazeb (viz. obr. 15.). Z této skutečnosti vyplývá, že monomer vinylalkohol neexistuje, jelikož je velmi nestabilní. Z tohoto důvodu obsahuje vždy určité množství polyvinylacetátových skupin, jejichž koncentrace ovlivňuje rozpustnost, mechanické vlastnosti a krystalinitu. Pokud polymer obsahuje více jak pět procent vinylacetátových jednotek, rozpouští se ve vodě jen při teplotách nad 65 °C. Množství polyvinylacetátových skupin ovlivňuje míra hydrolýzy. Teplota skelného přechodu ( $T_g$ ) se pohybuje v rozmezí 70 – 85 °C a teplota tání ( $T_f$ ) 250 °C. PVA se používá v textilním průmyslu jako zahušťka, koloid a šlichta, v medicíně jako materiál pro chirurgické nitě.[30]



Obr. 15: Alkalická reesterifikace v metanolu, převzato z [29].

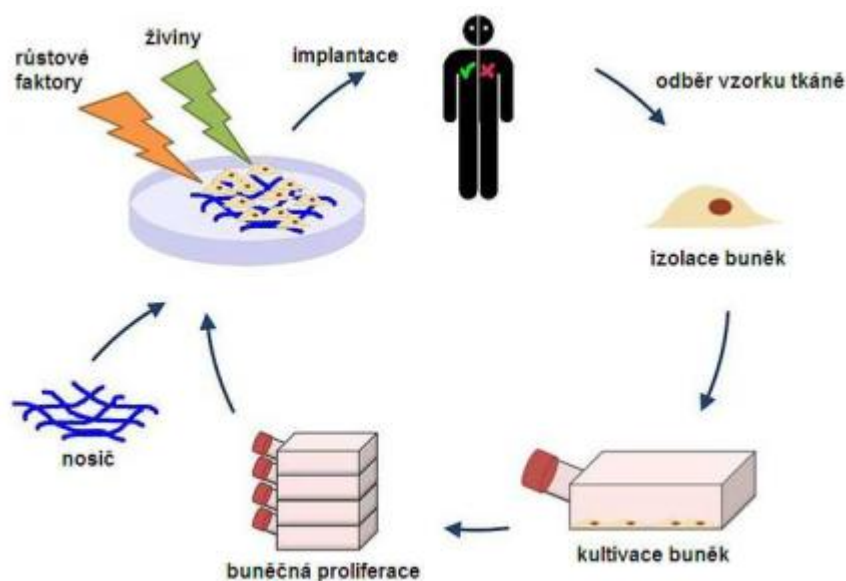
## **2.5. Scaffoldy pro tkáňové inženýrství**

V této kapitole bude pojednáno o základních principech tkáňového inženýrství, což je poměrně nový vědní obor, ve kterém jsou mimo jiné využívány nanovláknenné polymerní vrstvy jako tkáňové nosiče, takzvané scaffoldy. Tyto nosiče jsou s úspěchem využívány v regenerativní medicíně k rekonstrukci nebo nahrazení poškozené tkáně v těle pacienta. Jejich výroba zde bude popsána a rozdělena na textilní a netextilní způsob.

### **2.5.1. Tkáňové inženýrství**

Tkáňové inženýrství lze vnímat jako multidisciplinární obor spojující poznatky molekulární biologie, biochemie, farmacie, fyziky a medicíny k obnovení, náhradě nebo regeneraci tkání, tedy pro tzv. regenerativní medicínu. Tohoto cíle je dosaženo vhodným použitím a kombinací buněk, biochemických faktorů a vhodných tkáňových nosičů „scaffoldů“. Buňky samotné nejsou schopny růst a vytvářet objemnější strukturu. Pokud jsou ovšem umístěny do trojrozměrného prostředí z vhodného materiálu obsahujícího dostatek kyslíku a růstových faktorů, jsou schopny prorůstat tuto strukturu do požadovaného rozměru. Kultivace buněk na nosiči probíhá *in vitro* za přítomnosti živin, diferenciačních a růstových faktorů. Následná infiltrace buněk a mezibuněčné hmoty do scaffoldu probíhá *in vivo*, kdy regenerace tkání probíhá v přirozeném prostředí. Poslední fází je biodegradace samotného nosiče na těle vlastní látky (viz. obr. 16).[31,34]

Použité buňky mohou být autologní, tedy vlastní pacientova tkáň, která není spojená s rizikem odmítnutí imunitním systémem. Tato tkáň je odebírána a kultivována ve formě diferencovaných, genitorových a kmenových buněk. V případě, že nelze buňky izolovat od samotného pacienta, je možné odebrat buňky od dárce stejného druhu. Tyto buňky se nazývají allogenní. Zde je ovšem zvýšené riziko omítnutí této tkáně imunitním systémem příjemce z důvodu genetické odlišnosti alespoň na jednom pokusu. Třetí možnost je odběr buněk z jiného druhu, které se nazývají heterologní nebo také xenogenní.[31]



Obr. 16: Princip procesu tkáňového inženýrství, převzato z [32].

### 2.5.2. Zásady přípravy scaffoldů

Připravované tkáňové nosiče musí pro jejich správnou funkci splňovat celou řadu vlastností. Strukturálně se musí blížit podobě extracelulární matrice, tedy mezibuněčné tkáňové struktury tak, aby mohly buňky dostatečně proliferovat [34]. Toho lze dosáhnout správnou velikostí pórů a jejich dostatečnou kontinuitou. Nosič musí být samozřejmě biokompatibilní a biodegradabilní, aby nevyvolával imunologické reakce. Dále je třeba zajistit optimální mechanické vlastnosti a specifický povrch zajišťující dostatečnou buněčnou adhezi.[31]

Biomateriály používané v tkáňovém inženýrství pro výrobu scaffoldů můžeme rozdělit podle původu na přírodní a syntetické. Většina materiálu je převzata z jiných technologických oborů, například z medicíny [33]. Syntetické biologicky odbouratelné materiály jako jsou alifatické polyestery (kyselina polymléčná, polyglykolová a jejich kopolymery) a přirozeně získané materiály jako kolagen a chitin. Přírodní, přirozeně získané biomateriály se vyznačují velmi dobrou biokompatibilitou a biodegradabilitou. Nemůžeme u nich ovšem ovlivňovat jejich specifické vlastnosti v takové míře jako při výrobě syntetických biomateriálů. Z tohoto důvodu je dávana při výrobě přednost syntetickým biomateriálům.[31]

### **2.5.3. Netextilní způsoby přípravy scaffoldů**

#### **Vymývání částic**

Základem tohoto způsobu je příprava formy, do které se vhodně umístí částice přesně definovaných tvarů a velikostí. Obvykle se používají částice solí, vosků nebo cukrů. Do formy se nalije polymerní roztok, rozpouštědlo se po čase odpaří. Tím se vytvoří tuhý materiál složený z polymeru a částic. Následně se částice rozpustí vhodným rozpouštědlem. Vznikají tak tenké vrstvy požadovaných struktur, které lze dále vrstvit.[33]

#### **Solvent casting**

Metoda spočívá v řízeném vypařování rozpouštědla z polymerního roztoku a zároveň ve vytvrzování polymerního materiálu. Tímto postupem vznikají porézní membrány. V tomto i v předchozím případě je nutné dokonale vysušit zbytková toxická rozpouštědla ze vzniklé struktury.[33]

#### **Sušení za mrazu - lyofilizace**

Základem této metody je přidání rozpouštědla s nevhodnou polaritou do již připraveného polymerního roztoku. Vznikne tak emulze, kterou nalijeme do formy a prudce zchladíme například kapalným dusíkem. Následným sušením za mrazu dojde k odstranění obou rozpouštědel. Takto vzniklá struktura je vysoce porézní ale citlivá k vnějšímu prostředí.[33]

#### **Zpěňování**

Zpěňování polymerních roztoků mechanickým způsobem do formy tuhé pěny a její následné vysušení vede k vytvoření scaffoldů s propojenými póry. S rostoucí koncentrací polymerního roztoku roste počet póru v objemu a póry se zmenšují. Nevýhodou této metody je omezené množství polymerních roztoků schopných vytvořit stabilní pěnu bez přídavku povrchově aktivních látek.[33]

## **Rapid prototyping**

Tato metoda umožňuje rychlou výrobu tvarově přesných modelů a struktur pomocí CAD systémů využívajících digitalizovaných dat požadované geometrie. Podstatou je integrace velmi slabých vrstev vzniklých řízeným vytvrzováním polymerního roztoku nebo laserovým vyřezáním z pevného materiálu. Výhodou je vznik přesně definované struktury v relativně krátkém čase.[33]

## **Hydrogely**

Velice důležitou skupinou biomateriálů jsou hydrogely v podobě zesíťovaného hydrofilního polymeru. Při kontaktu s vodou bobtnají. Absorbují velké množství vody, aniž by se samy rozpustily. Tím získávají velmi specifické vlastnosti podobné měkkým tkáním. Polymery, které přirozeně tvoří hydrogely, jsou například algináty, kyselina hyaluronová a fibrin.[33]

### **2.5.4. Textilní způsoby přípravy scaffoldů**

#### **Tkaní**

Klasický způsob výroby plošných textilií se uplatňuje pro výrobu scaffoldů jen velmi málo. Tento fakt je způsoben poměrně malou tažností a ohebností tkanin. Využívají se v podstatě jen trojrozměrné tkaniny vyráběné pomocí víceosnovního tkaní. Tyto trojrozměrné tkaniny slouží jako scaffold pro buněčné struktury chrupavky.[33]

#### **Pletení**

Pletené textilní struktury jsou jako scaffoldy využívány v hojné míře. Pleteniny snadno vytvářejí vysoce porézní trojrozměrné struktury, které jsou tažné, poddajné a prodyšné. Jejich vlastnosti lze jednoduše modifikovat pomocí typu vazby. Použití pletenin limituje dosažená velikost pórů, které jsou příliš velké na to, aby zachytily nasazované buňky. S úspěchem se používají jako scaffoldy chrupavek, kůže a zejména cévních náhrad.



## **Netkané textilie**

Nejperspektivnější textilní metodou pro výrobu scaffoldů je výroba netkaných textilií. Konkrétně se jedná o vytváření vlákných struktur například mykáním, naplavováním, technologií melt-blown, spun-bond a nově způsobem elektrostatického zvlákňování. Těmito metodami jsou snadno vytvořeny trojrozměrné textilie vyznačující se náhodnou orientací vláken a dobrými mechanickými a strukturními vlastnostmi. Velmi důležitou vlastností je vysoká pórozita při malých průměrech pórů, což umožňuje dobrou adhezi a proliferaci buněk.[32,33]

### 3. PRAKTICKÁ ČÁST

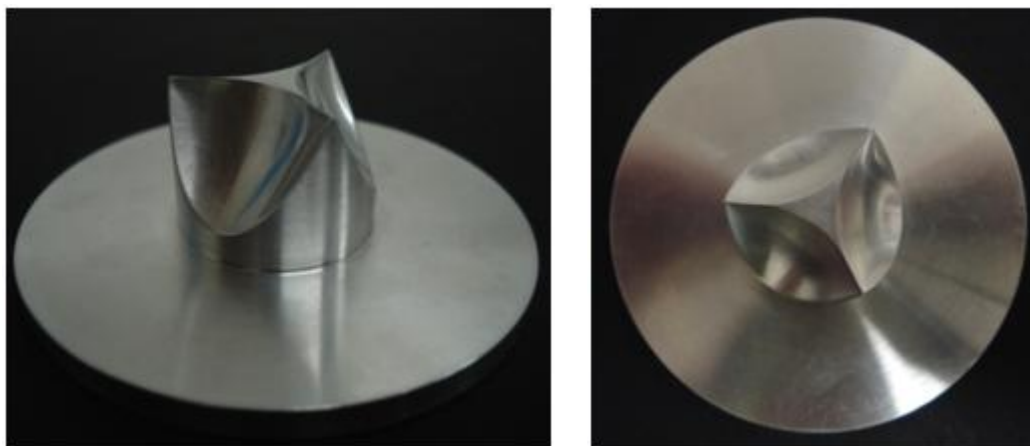
Experimentální část zahrnuje přípravu vhodného třídimenzionálního modelu pro následné pokrývání nanovlákný. Dále vývoj a testování technologie ukládání nanovláken pomocí řízeného proudu vzduchu, která vychází z patentu TUL č. 294274 a její následná aplikace při pokrývání navrženého modelu. U takto vytvořené vlákenné vrstvy bude dále testována její struktura a buněčná adheze pomocí vhodných stereologických a biologických metod.

#### 3.1. Příprava modelu

V této kapitole bude popsán proces výroby polyuretanového (dále jen PUR) modelu srdeční chlopně metodou lití ve vakuové komoře. Tento model bude dále sloužit jako třídimenzionální struktura pro pokrývání nanovlákný.

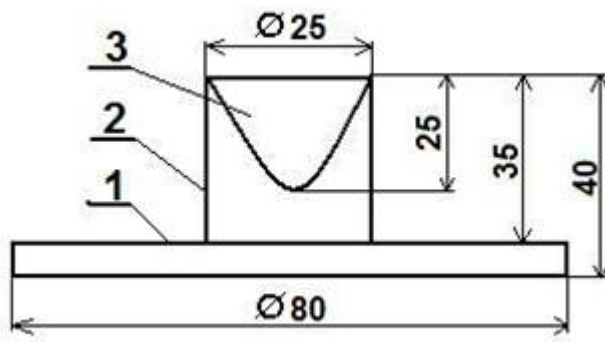
##### 3.1.1. Popis předlohy

Jako předloha pro výrobu PUR modelu trikuspidální srdeční chlopně byl dodán obrobený model její funkční geometrie, který byl vyroben ze slitiny obsahující 95 % hliníku, 4 % mědi a legující prvky hořčíku a manganu (viz. obr. 17). Tato slitina je dobře obrobitelná a chemicky odolná při velmi dobrých mechanických vlastnostech. Další výhodou tohoto materiálu je jeho dobrá tvarová stálost v důsledku nízké elastické hystereze, která je výhodná pro přesné geometrické modely. To vše při drsnosti povrchu  $Ra\ 0,8\mu m$ .



*Obr. 17: Duralový model trikuspidální chlopně.*

Model je velikostně shodný s trikuspidální chlopní dospělého člověka. Lze jej rozdělit na dvě části. Na část manipulační v podobě plochého kotouče a na část funkční, v podobě válečku s třemi konvexními výřezy ve tvaru jednotlivých cípů chlopně (viz. obr. 18).



*Obr. 18: Základní geometrie modelu trikuspidální chlopně: 1- manipulační část, 2- funkční část, 3- konvexní výřez.*

### 3.1.2. Výroba formy

Aby bylo možné vytvořit PUR model, bylo potřeba nejdříve zhotovit vhodnou formu pro jeho odlití. Pro svou časovou nenáročnost a poměrně nízké finanční náklady byla zvolena metoda výroby formy litím vysokopevnostního silikonkaučuku ve vakuové komoře. Tento materiál se používá konvenčně, pro své dobré zpracovatelské vlastnosti a tepelnou odolnost.

### Použitý materiál

Konkrétně byl použit SILASTIC T-4 od firmy EBALDA. Jedná se o speciální vysokopevnostní silikonkaučuk pro slévárenské prototypové a malosériové formy. SILASTIC T-4 je dvousložkový silikonkaučuk s možností volby tužidla a to T-4 standard a nebo T-4 O samomazné na voskové bázi. Tento materiál je čitý, transparentní s tažností 400 %, pevností v tahu 6,6 MPa při teplotní odolnosti do 250 °C. Lící směs má nízkou viskozitu, což zaručuje dobré promíchání složek a dobrou zabíhavost.

## Použité zařízení

Použitým zařízením pro výrobu silikonkaučukové formy byla vakuová licí komora od německé firmy MK technology. Tato komora představuje nižší třídu v řadě vyráběných licích komor. Plášť je vyroben ze silnostěnné ocele a vlepeného tlakového skla. Disponuje vývěvou, vnitřním vytápěním a ručně ovládaným licím zařízením (viz. obr. 19).

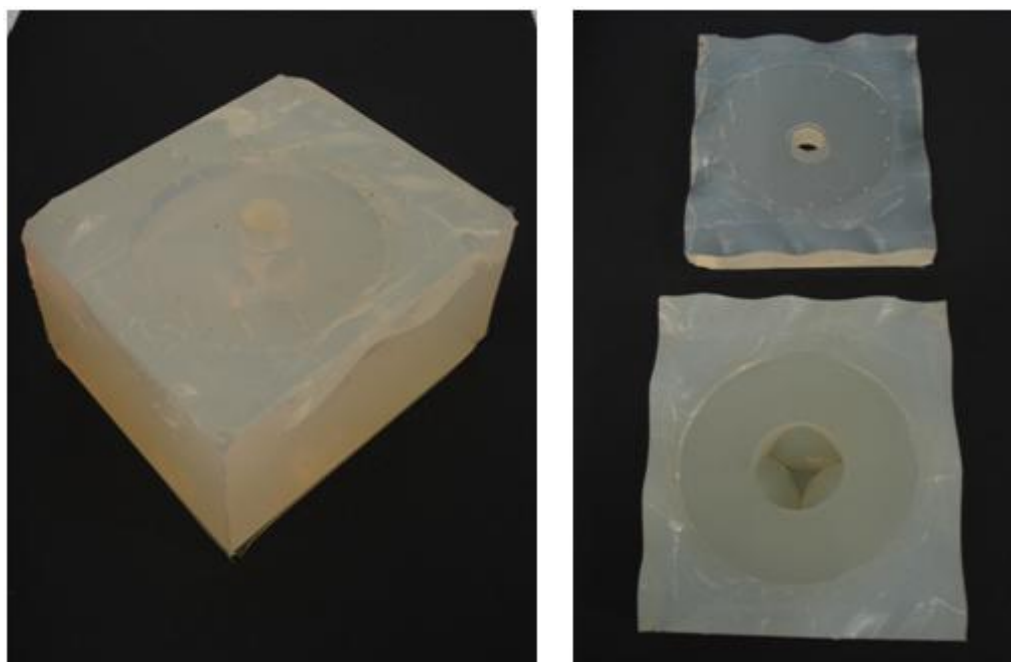


*Obr. 19: Vakuová licí komora: 1- míchací zařízení, 2- licí zařízení, 3- podložka pod licí nádobu, 4- osvětlení, 5- ovládání a regulace*

## Postup výroby

S ohledem na velikost a objem duralové předlohy byla sestavena skleněná licí nádoba ve tvaru kvádru s rozměry 110x90x70 mm a objemem 700 ml. Duralový model s přilepeným vtokovým jádrem se do nádoby upevnil v požadované poloze pomocí silikonu a tyček. Do vakuové licí komory byla následně vložena předeřhátá licí nádoba s duralovou předlohou. Do otočných nádob v komoře se jednotlivě nalily složky licí hmoty. Komora byla hermeticky uzavřena, silikonkaučuková složka nalita do nádoby s tužidlem a obě složky dokonale promíchány automatickým míchadlem.

Materiál byl namíchán o objemu 700 ml v poměru 10:1. Tedy 634 ml silikonkaučuku a 64 ml voskového tužidla T-4 O, které zaručuje dobrou separovatelnost. Dokonale promíchaná směs se následně nalila do licí nádoby, dokud nevyplnila celý její objem. Následně vytvořené 99% vakuum vyvolalo sublimaci nežádoucích plynů a zbytkového tužidla na povrch vytvořené formy. Takto připravená forma tvrdla 8 hodin při teplotě 24°C, poté byla rozebrána licí nádoba a forma rozříznuta nepravidelně pomocí skalpelu a rozvěráku v úrovni licí roviny. Následovalo vyjmutí duralového modelu z formy a vytlačení plynových výfuků pomocí chirurgické jehly. Při tomto způsobu výroby došlo po vytvrdnutí formy k jejímu smrštění o 1-2 %, což je pro experimentální účely akceptovatelná hodnota. Nelineární řez formou byl volen úmyslně pro zvětšení styčné plochy obou dvou dílů formy (viz. obr. 20).



*Obr. 20: Silikonkaučuková forma a její části.*

### **3.1.3. Výroba modelu**

Posledním krokem je samotné odlití PUR modelu trikuspidální srdeční chlopně, který bude sloužit jako vhodná třídímenzionální struktura pro další experimenty. Zvolený materiál je vysokopevnostní houževnatý polyuretan, který je běžně dostupný a poměrně levný.

## **Použitý materiál**

Použitým materiálem je ISOCYANAT G50 od firmy TORTEN s.r.o. Jedná se o vysokopevnostní houževnatý polyuretan využívaný pro výroby rozměrově stabilních odlitků. ISOCYANAT G50 je dvousložkový materiál, který se připravuje z izokyanátu a spolyolu v poměru 1:1. Tento materiál je cihlově červený s tažností 200%, pevností v tahu 60 MPa při teplotní odolnosti do 90 °C.

## **Použité zařízení**

Použitým zařízením pro výrobu modelu byla vakuová lící komora, která je popsána výše v podkapitole popisující výrobu lící formy (Str. 36). Druhým zařízením je samotná silikonkaučuková forma (Str. 36) určená k odlití PUR modelu.

## **Postup výroby**

Technologie výroby PUR modelu byla téměř totožná jako v případě výroby silikonkaučukové formy. Do vakuové komory byla vložena předeřtá lící forma a jednotlivé složky pro přípravu polyuretanu nality do předem připravených nádob. S ohledem na přibližný objem budoucího modelu bylo připraveno 60 ml polyuretanu smícháním obou složek, spolyolu a izokyanátu v poměru 1:1, tedy 30g a 30g. Smíchání složek předcházelo vlití spolyolu do nádoby s izokyanátem. Následně vytvořené vakuum vyvolalo sublimaci přebytečného izokyanátu a plynů na povrch materiálu. Po následném vyjmutí z vakuové komory se forma s vlitým polyuretanem nechala 8 hodin odležet za běžné teploty. Během této doby proběhlo kompletní vytvrzení PUR modelu (viz. obr. 21).



*Obr. 21: PUR model.*

## **3.2. Návrh modelu chlopně pro technologii rapid prototyping**

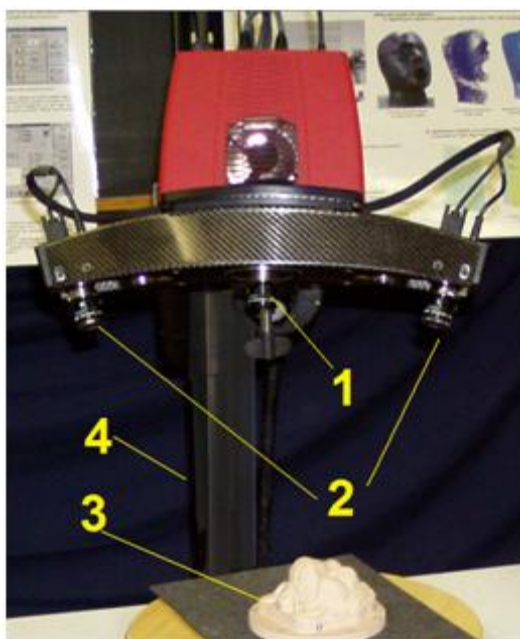
V této kapitole bude popsána příprava a návrh modelu srdeční chlopně metodou Rapid prototyping. Konkrétně se jedná o návrh vhodné polymerní skořepiny, která bude po pokrytí nanovlákný rozpuštěna ve vhodném rozpouštědle. K tomuto kroku bylo přistoupeno ze dvou důvodů. Za prvé, tento postup by byl volen v případě, že by byla zvolena jako tkáňový scaffold samonosná vlákenná vrstva bez další pevné podpory z biodegradabilního polymeru. Za druhé, nelze sejmut vytvořenou vlákennou vrstvu mechanickými způsoby tak, aby nedošlo ke změně jejího tvaru a mechanickému porušení. Od samotné výroby modelu technologií Rapid prototyping bylo opuštěno, protože PUR modely se ukázaly jako vyhovující pro další testy.

### **3.2.1. Scannování geometrie**

Vzhledem k tomu, že k obrobenému duralovému modelu chlopně nebyla dodána jeho digitalizovaná výrobní geometrie použitelná pro metodu Rapid prototyping, bylo potřeba nejdříve požadovanou geometrii získat. Jako nejvhodnější byla vybrána metoda optického scannování a digitalizace geometrie třídimenzionálních objektů.

#### **Použité zařízení**

Použitým zařízením pro optické skenování geometrie byl optický bezdotykový scanner ATOS II 400 od německé firmy GOM (viz. obr. 22), který je určený pro rychlou digitalizaci reálných objektů o rozměrech od několika milimetrů až po několik metrů. Toto zařízení slouží k přenosu povrchu reálného předmětu do 3D grafického rozhraní počítače, kde je možné dále jej upravovat a modelovat. Pomocí takto získaných dat lze vygenerovat soubory pro výrobu a následně znovu změřit a porovnat vyrobený díl s originálem. Systém ATOS pro digitalizaci povrchu využívá metodu projekční moiré topografie, snímané dvěma digitálními kamerami s vysokým rozlišením optických čipů (1,4 mil. bodů každá). Výstupem z měření je velmi kvalitní soubor STL dat, nebo 3D souřadnic bodů (sít' bodů), program umožňuje ukládat i řezy, obrysové linie, případně výstupní protokoly kvality.



*Obr. 22: Optický scanner Atos: 1- projektor, 2- snímací kamery, 3- skenovaný model, 4- manipulační rameno.*

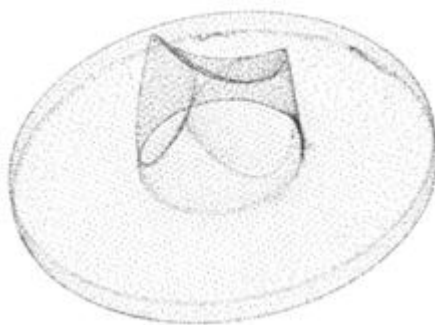
### **Postup scannování**

Nejprve se optický scanner zkalibroval dle příslušného ethalonu a na PUR model byla nanesena antireflexní vrstva na bázi pudrového prášku, která potlačovala nežádoucí odrazení světla hladkým povrchem modelu. Následně byl model umístěn na otočnou podložku s referenčními značkami v ohniskové vzdálenosti 750 mm od čoček snímacích kamer. Poté proběhlo samotné scannování, při kterém projektor zobrazuje na scannovaný objekt referenční laserovou síť. Otáčený model je snímán kamerami a vytvoření jednoho snímku trvá přibližně 2 sekundy. Každý použitelný snímek musel obsahovat snímání model a nejméně tři referenční značky, podle kterých se spojily jednotlivé snímky v jeden trojrozměrný model. Zobrazovaná referenční síť sloužila jako souřadnicový systém pro dopočítání rozměrů snímaného objektu.

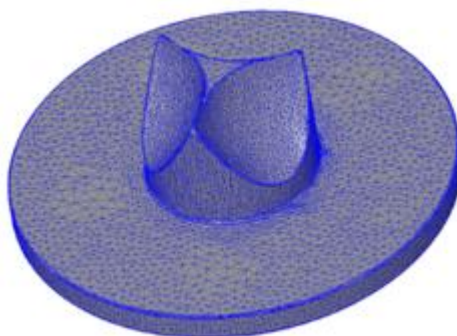


### 3.2.2. Digitalizace

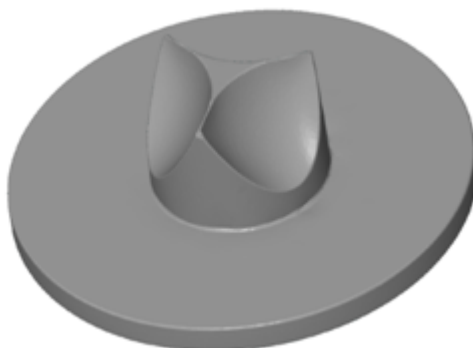
Optickým scannováním získaná data v podobě sítě bodů byla nejprve zpracována v programu GOM inspect a dále byl pomocí těchto bodů vykreslen scannovaný model (viz. obr. 23). Následně byly tyto body propojeny přímkami do podoby polygonální sítě (viz. obr. 24). Vzniklé jednotlivé polygony byly proloženy pomyslnými ploškami pro trojrozměrnou vizualizaci objemného tělesa (viz. obr. 25).



*Obr. 23: Zformovaná bodová síť z nascannovaných dat.*



*Obr. 24: Jednotlivé body propojené do polygonální sítě.*

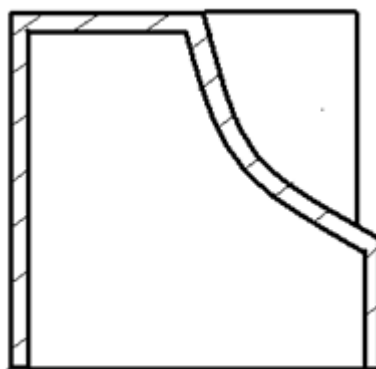


*Obr. 25: Polygonální síť proložená plochami.*

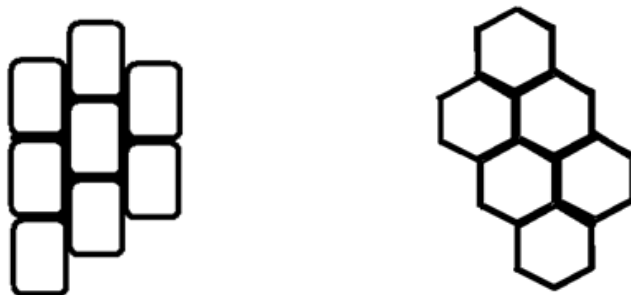
### 3.2.3. Návrh modelu pro metodu Rapid prototyping

Pro případnou výrobu modelu chlopně metodou Rapid prototyping bylo potřeba nascannovaný PUR model v podobě polygonální sítě převést do modelu, který nebude tvořen body ale plochami. K tomu byl použit program Geomagic studio. Jednoduché, rovinné a válcové plochy se dařilo bez větších problémů nahrazovat, ovšem konvexní výřezy jednotlivých cípů chlopně mají tvar složitější křivky, která se nedá bez dalších upřesňujících předpisů dokonale nahradit. Proto bude potřeba pro budoucí výrobu tyto plochy nahradit jednoduššími plochami, nebo využít vytvořenou polygonální síť pro vytvoření nedokonalé plochy.

Jak už bylo zmíněno výše, model určený pro Rapid prototyping bude možno v případě potřeby rozpustit vhodným rozpouštědlem a tím eliminovat mechanické vlivy působící při sejmutí polymerní nanovlákněné vrstvy. Pro snížení času potřebného k rozpouštění je model navržen jako slabostěnná skořepina (viz. obr. 26), která bude celistvá nebo vhodně perforovaná, kvůli snížení styčné plochy s nanovlákněnou vrstvou (viz. obr. 27).



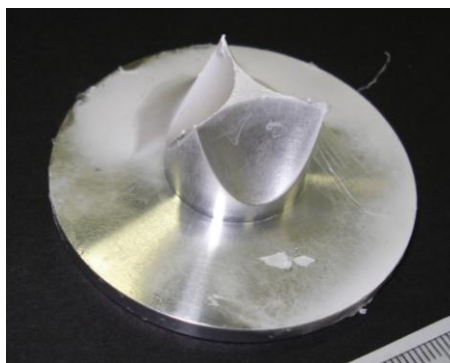
*Obr. 26: Skica řezu skořepinou modelu.*



*Obr. 27: Skica vhodných perforací skořepiny.*

### 3.3. Vývoj a testování technologie

Dále bude popsán vývoj technologie, která by zajistila souvislé pokrývání tvarově složitějších třídimenzionálních struktur polymerními nanovlákný. Vývoj vycházel z patentu TUL č. 294274, jež popisuje základní schéma ukládání elektrostaticky zvlákněných nanovláken proudem vzduchu na rovinnou plochu. Princip ukládání nanovláken řízeným proudem vzduchu byl zvolen hlavně proto, že pokrytí členitějších povrchů klasickou technologií elektrostatického zvláknování není příliš úspěšné. Při klasickém způsobu elektrostatického zvláknování je pokrývaný objekt zároveň vodivým kolektorem, tudíž musí být z vodivého materiálu. To je jeden z limitujících faktorů, protože v mnoha případech je potřeba pokrýt nevodivý model, například z polymerního materiálu. Dalším problémem klasické metody je fakt, že při pokrývání členitějšího povrchu, se na jeho výrazných hranách vytváří vysoká intenzita elektrického pole, což má za následek vytvoření nehomogenního elektrostatického pole přitahujícího záporně polarizovaná vlákna nestejnoměrně. Dále dochází k vytvoření nehomogenní nanovlákněné vrstvy. Celý proces je detailně popsán v [35]. Tato skutečnost je patrná na obrázku 28, kde je duralový model trikuspidální srdeční chlopně povlákňený běžnou metodou elektrostatického zvláknování. Tato vlákněná vrstva je zřetelně nehomogenní.



*Obr. 28: Povlákňený duralový model klasickou metodou.*

#### 3.3.1. Návrh technologie

Při sestavování základní funkční technologie se vycházelo z koncepce technologie NanospiderTM. Použity byly dva zdroje vysokého elektrického napětí s rozdílnou polarizací a polyamidová nádoba na polymerní roztok s výřezy pro upevnění spinneru v podobě podlouhlého hladkého válce z hliníkové slitiny

(viz obr. 33), napojeného na zdroj vysokého napětí s kladnou polaritou. Válcový spinner byl plastovým bowdenem propojený s elektromotorem disponujícím plynulou regulací otáček. Zajišťoval rotační pohyb spinneru v nádobě s polymerem. Jako kolektor byly použity tři ocelové jehly vetknuté do polystyrenového bloku spojené aluminiovou páskou a připojené k záporně polarizujícímu zdroji vysokého napětí.

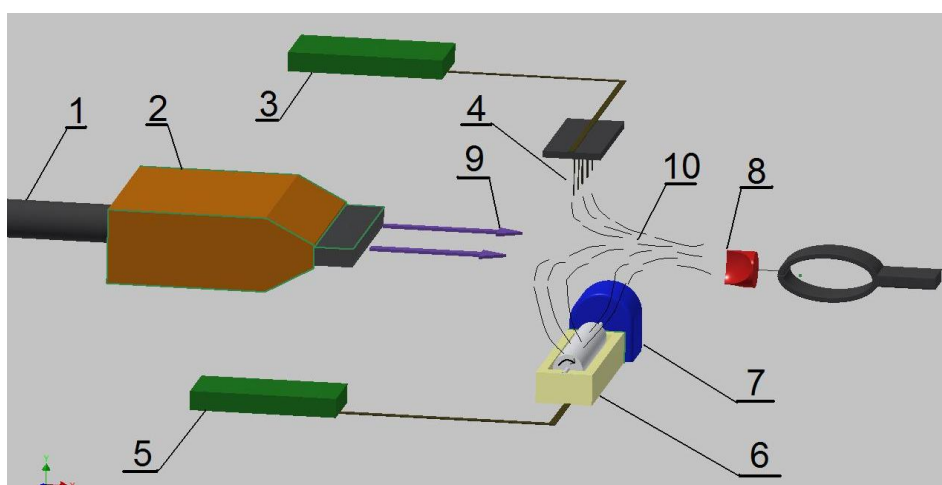
Proud vzduchu vytvářel nejprve šnekový přenosný ventilátor s kulatým výstupem. Ten se ovšem ukázal jako nevhodný z důvodu malého výkonu, špatné regulace proudu vzduchu a hlavně špatným usměrňováním proudu vláken. To bylo způsobeno vývodem kulatého průřezu, který vyvolával nežádoucí turbulentní proudění, které dostatečně neusměrňovalo unášení vlákna a spíše je rozptylovalo do okolí. Z tohoto důvodu byla dodatečně vytvořena přetlaková tryska (viz. obr. 29) z archivářské lepenky, která je vlhku odolná, a tudíž odolává lépe mechanickým vlivům. Tryska se dále skládala z polykarbonátového vývodu složeného ze sedmi segmentů čtvercového průřezu. Tento tvar vývodu vzduchu zajišťoval pohlcování nežádoucího radiálního proudění tečného k vnitřní ploše vývodu a vytvářel kontinuální laminární proudění vzduchu. Přetlak zajišťoval rozdíl průřezů přívodu a odvodu vzduchu. Tryska byla finálně napojena na silný šnekový ventilátor tvořící součást klimatizačního systému laboratorní digestoře (viz. obr. 30), ve které se všechny experimenty realizovaly. Schéma kompletní technologie je na obrázku 31.



*Obr. 29: Přetlaková tryska.*



Obr. 30: Laboratorní digestoř: 1- pracovní prostor, 2- zdroje vysokého napětí, 3- ventilátor, 4- klimatizační jednotka, 5- elektroinstalace.



Obr. 31: Zařízení pro pokrývání třídimenzionálních struktur nanovláknny: 1- Přívod vzduchu, 2- přetlaková tryska, 3- zdroj záporně polarizovaného vysokého napětí, 4- jehlový kolektor, 5- zdroj kladně polarizovaného vysokého napětí, 6- polyamidová nádoba na polymerní roztok a válcový spinner, 7- elektromotor 8- pokrývaný model trikuspidální srdeční chlopně, 9- laminární proud vzduchu, 10- proud nanovláken.



Obr. 32: První testy technologie a její uspořádání.



*Obr. 33: Hladký hliníkový spinner.*

### **3.3.2. Testování**

První testy se zaměřovaly na určení vhodných tvarů, které budou s úspěchem pokrývány. Dále bylo nutno zjistit základní vyhovující nastavení zařízení tak, aby docházelo k vytváření homogenní vrstvy, která bude kopírovat daný povrch.

#### **Materiál.**

Pro základní testování byl jako vláknotvorný polymer použit 12% roztok PVA dodávaný chemickými závody Nováky. Jeho molekulová hmotnost byla 60 000-100 000. Tento polymer patří do skupiny vinylových polymerů, je hydrofilní, netoxický, rozpustný v polárních rozpouštědlech, tedy i ve vodě. Z těchto vlastností vyplývá, že je to ideální materiál pro základní testování, který lze velmi úspěšně zvláknovat, další výhodou je jeho nízká cena. Pro experimenty byl připraven polymerní 12% roztok naředěním dodávaného 16% roztoku vhodným objemem destilované vody.

#### **Nastavení zařízení**

První testy zařízení spočívaly v jeho vhodném provozním nastavení, tedy zvolení vzájemného rozmístění přetlakové trysky, pokrývaného modelu, spinneru a kolektoru. Déle se jednalo o zvolení a vhodné nastavení ventilátoru atd.

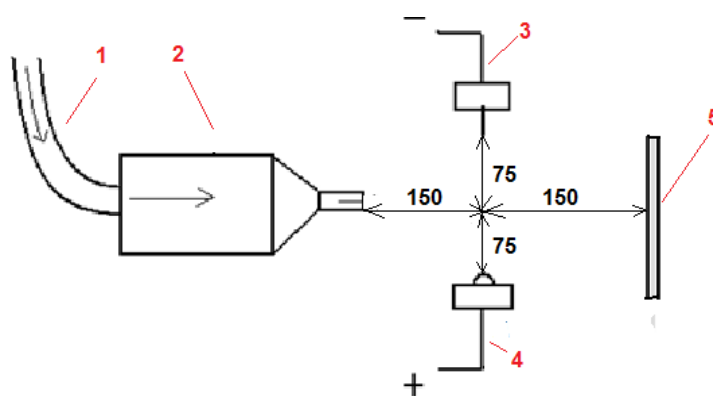
Uspořádání určené jako nejvhodnější je znázorněno na obrázku 34., kdy jsou vzdálenosti zvoleny tak, aby při samotném procesu na jednotlivých zařízeních neulpívala vlákna. Při navolení frekvence 18Hz na ventilátoru, bylo možno pozorovat laminární proud vzduchu s nanovláknky až do vzdálenosti 300 mm od spinneru. Po překročení této vzdálenosti přecházel laminární proud na turbulentní. Při tomto nastavení ventilátoru byly změřeny rychlosti proudění vzduchu v jednotlivých vzdálenostech od spinneru (viz. tab. 1). Otáčky spinneru byly nastaveny na 8 ot/min.

Jako ideální objem polymerního roztoku nalitého do polyamidové nádoby se jevílo 20ml. Tento objem se musel i při stále probíhající zvláknování průběžně po dvaceti minutách doplňovat, protože u staršího roztoku se zvyšovala jeho viskozita.

Dolní okraj polykarbonátového vývodu přetlakové trysky byl umístěn do jedné roviny se středem pokrývaného objektu, protože nanovlákná unášel především dolní okraj laminárního proudu vzduchu. Nadkritické hodnoty napětí na jednotlivých elektrodách, při kterých se počalo zvlákňovat PVA, byly 13 kV na záporné elektrodě a 20kV na kladné. Hodnoty, při kterých probíhalo kontinuální zvlákňování bez defektů, byly 15 kV na záporné a 24 kV na kladné elektrodě. To vše při 22°C a vzdušné vlhkosti 55%.

Vzdálenost [mm]	100	150	200	250	300
Rychlost [m/s]	10,1	9,2	8,3	7,2	6

Tab. 1: Naměřené rychlosti proudění vzduchu v jednotlivých vzdálenostech.



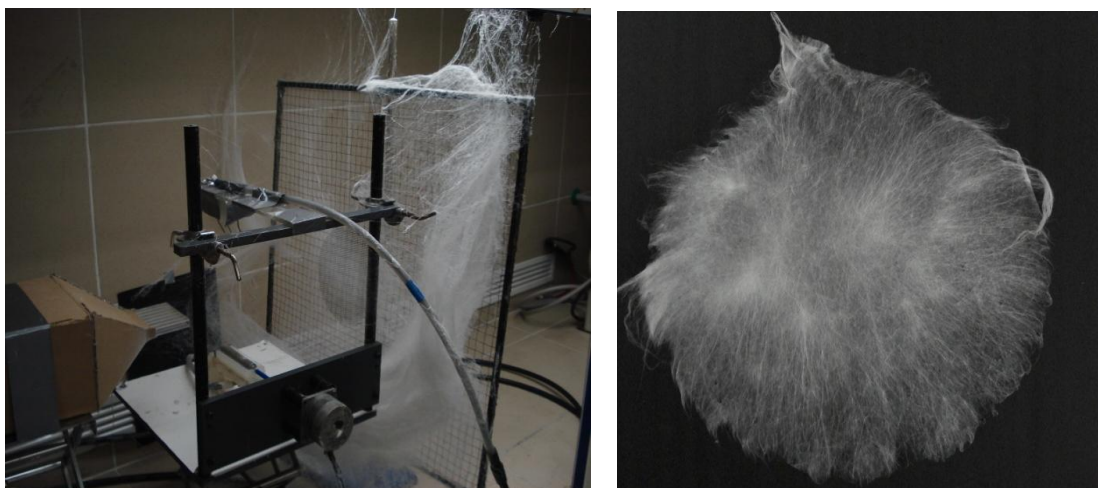
Obr. 34: Konečné prostorové uspořádání technologie: 1- přívod vzduchu, 2- přetlaková tryska, 3- kolektor, 4- spinner, 5- pokrývaný model.

### Pokrývání rovinné plochy.

První předpoklady byly takové, že nebude pokrývání rovinné celistvé plochy proudem vzduchu úspěšné, protože proud vzduchu s unášenými nanovláknami se bude od plochy odrážet a ohýbat směrem do stran, aniž by nanovlákná ulpívala na povrchu. Proto byla jako rovinná plocha použita prodyšná pletenina, která by měla zajišťovat menší odpor proti proudění. Zařízení bylo nastaveno podle výše stanovených podmínek.

Prvních 20 vteřin pokrývání probíhalo úspěšně, poté se ovšem na povrchu pleteniny vytvořila souvislá vrstva, která vychylovala proud vzduchu do té míry, že dále vlákna téměř neulpívala na pokrývaném objektu. To mělo za následek nehomogenní pokrytí pleteniny (viz. obr. 35).



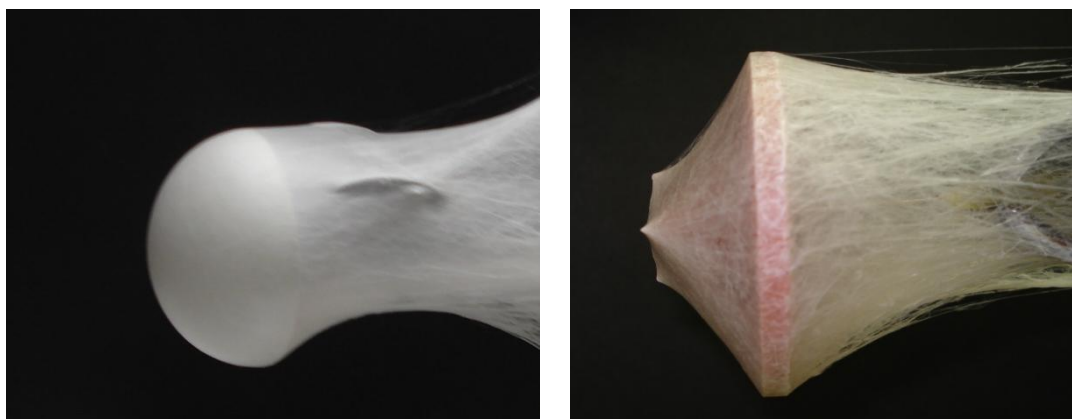


*Obr. 35: Povláknování souvislé plochy.*

### **Pokrývání třídimenzionálního objektu.**

Technologie byla nastavena stejně jako při pokrývání rovinné plochy. Pokrývaným objektem byly polyethylenové vypuklé polokoule, které mají přesně definovaný aerodynamický odpor. Také byl proveden první test pokrytí PUR modelu trikuspidální srdeční chlopně. Použitým polymerem byl opět PVA.

Na pokrývaných plastových polokoulích (viz. obr. 36) se tvořila homogenní souvislá nanovláknenná vrstva a to až do průměru 70mm. Dále už laminární proud vzduchu neobsáhl svou šíří celý průměr polokoule a vláknenná vrstva nebyla souvislá. Pokrytí PUR modelu chlopně neproběhlo úspěšně (viz. obr. 36). Vláknna nepokryla patu funkční části modelu, pouze ho přehradila uchycena na manipulační část. Tato skutečnost byla způsobena vysokým aerodynamickým odporem, proto byla manipulační část pro další použití odstraněna.



*Obr. 36: Povlákněná plastová polokoule a PUR model chlopně.*

..





*Obr. 37: Ukládání nanovláken v prostoru digestoře.*

### 3.3.3. Určení výrobnosti

Posledním zjišťovaným parametrem byla výrobnost, kterou disponuje navržená technologie za různých podmínek. Touto podmínkou je proměnlivá vzdálenost pokrývaného modelu od spinneru. Minimální vzdáleností je taková vzdálenost, při které, se vytvořená vlákna přestávají zachytávat na kolektoru a hraně nádoby na polymerní roztok. Maximální vzdáleností je hranice, za kterou se laminární proudění vzduchu mění na turbulentní. Pokrývaným objektem byla vypuklá polypropylenová polokoule o průměru 40 mm s jasně definovatelnou plochou. Doba pokrývání byla pro všechny vzdálenosti 5 minut. Hmotnost polokoule byla zvážena před a po pokrývání s přesností na tři desetinná místa. Tyto hodnoty od sebe byly následně odečteny a příslušným výpočtem byla zjištěna výrobnost pro jednotlivé vzdálenosti (viz. tab. 2). Z této tabulky je jasně patrné že při vzdálenosti 200 mm a výše, se výrobnost rapidně snižuje. Toto zjištění potvrzuje správnost předchozího stanovení provozní vzdálenosti pokrývaného objektu od spinneru.

Vzdálenost [mm]	Výrobnost [ $\text{g/m}^2$ ]
100	4,37
150	3,98
200	1,99
250	1,95
300	0,79

*Tab. 2: Vypočtené výrobnosti pro jednotlivé vzdálenosti pokrývání.*

### **3.4. Příprava vzorků**

Po úspěšném vývoji technologie a technologických podmínek následovala výroba vzorků (viz. obr. 40) polymerních vláknenných vrstev určených pro další testování jejich využitelnosti pro tkáňové inženýrství. Vzorky byly vyrobeny dva, každý s využitím jiného spinneru. Tyto rozdílné spinnery by měly podle předpokladů ovlivnit jejich výslednou strukturu.

#### **3.4.1. Materiál**

Pro výrobu finálních vzorků byl jako vláknotvorný polymer použit PCL dodávaných firmou Aldrich disponující molekulovou hmotností 45 000. Tento polymer patří do skupiny alifatických polyesterů. Je biodegradabilní, netoxický a rozpustný v polárních rozpouštědlech. Jeho velkou výhodou je jeho hydrofobita, která je vhodná pro růst buněk. PCL je mezinárodně schválený polymer pro použití v biomedicině. Z těchto vlastností vyplývá, že je to vhodný materiál pro tvorbu tkáňových nosičů. Jako polymerní roztok určený pro experimenty byl připraven 15% a 18% roztok PCL.

Oba roztoky byly připraveny smícháním s vhodným rozpouštědlem při předem vypočítaném poměru. Použitým rozpouštědlem byla směs chloroformu s etanolem v poměru 9:1.

#### **3.4.2. Spinnery**

Pro zvláknování PCL nelze použít spinner se souvislým nebo mírně tvarovaným povrchem, ale je potřeba použít spinner s výrazně vysunutými segmenty s malou zvláknovací plochou, na kterých se bude tvořit elektrické pole o dostatečné intenzitě. Intenzita elektrického pole roste logaritmicky s klesajícím průměrem zvláknovacího lineárního segmentu v podobě struny nebo hrotu.

##### **Spinner s hroty**

Tento spinner je 150 mm dlouhý. Tvoří jej litinová hřídel s navrtanými otvory po obvodu, do kterých jsou zašroubovány ocelové hroty o průměru 3 mm (viz. obr. 38). Pracovní průměr s hroty je 25 mm.



*Obr. 38: Spinner s hroty.*

### **Strunový spinner**

Jedná se o 150 mm spinner tvořený závitovou osou a polyamidovými kotouči, mezi kterými je čtyřikrát natažená ocelová struna o průměru 0,5 mm (viz. obr. 39). Pracovní průměr je 20 mm.



*Obr. 39: Strunový spinner.*

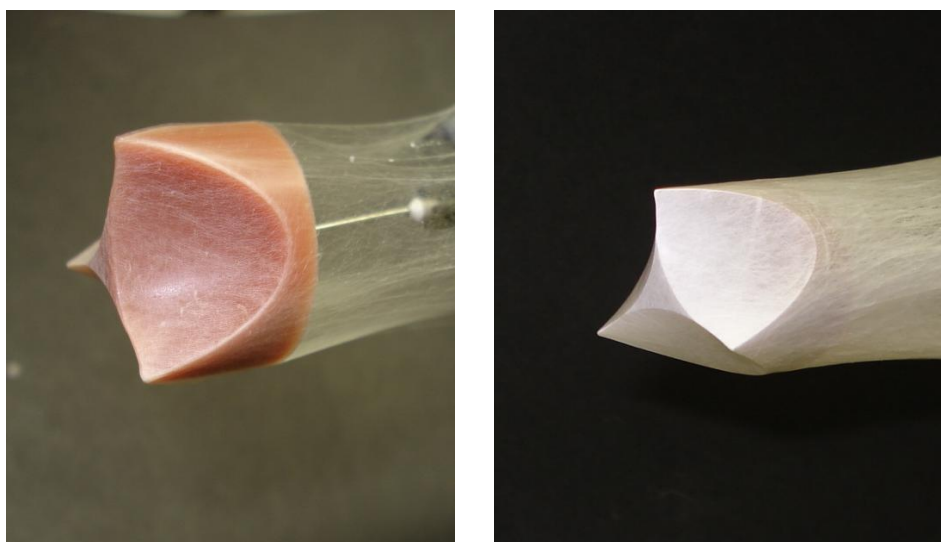
### **3.4.3. Postup přípravy**

Zařízení bylo opět nastaveno tak jako v předešlých případech. Pro úspěšné pokrytí PUR modelu chlopně byla odstraněna jeho manipulační část z důvodu snížení aerodynamického odporu na přijatelnou hodnotu. Obě polymerní vrstvy měly být silné alespoň 0,5 – 1 mm aby snesly bez problémů manipulaci při následných testech.

Při zvlákňování pomocí spinneru s hroty byl úspěšně použit 15% roztok PCL. Pokrývání PUR modelu probíhalo po dobu 50 minut při působení teploty 22°C a vzdušné vlhkosti 65%. Nadkritické meze při vlákňování 15% PCL tímto spinnerem

byly 15 kV na záporné a 22,2 kV na kladné elektrodě. Hodnoty, při kterých se roztok PCL kontinuálně zvlákňoval, byly 16,2 kV na kladné a 26 kV na záporné elektrodě. Spinner se otáčel rychlostí 7,5 ot/min směrem k pokrývanému objektu. Zvlákňování polymeru probíhalo v porovnání se zvlákňováním PVA značně pomaleji. To bylo ovšem způsobeno velikostí zvlákňovací plochy.

Při užití strunového spinneru byl nejdříve vyzkoušen 15% roztok PCL. Ten ovšem na tenkých strunách ulpíval s ohledem na svou viskozitu v malém objemu a nedocházelo k souvislému zvlákňování po celé délce struny. Proto byl použit koncentrovanější 18% roztok PCL, který byl viskóznější a ulpíval na strunách ve větším objemu. Při použití 18% PCL probíhalo zvlákňování kontinuálně po celé délce struny. Pokrývání modelu probíhalo opět 50 minut při teplotě 23°C a vzdušné vlhkosti 60%. Nadkritické meze při vlákňování 18% PCL tímto spinnerem byly 15,4 kV na záporné a 23,8 kV na kladné elektrodě. Hodnoty, při kterých se roztok PCL kontinuálně zvlákňoval, byly 17,1 kV na kladné a 27,3 kV na záporné elektrodě. S ohledem na ještě menší zvlákňovací plochu v porovnání se spinnerem s hroty probíhalo zvlákňování velice pomalu, což bylo ovšem vykompenzováno zvýšením otáček na 20 ot/min. opět ve směru otáčení k pokrývanému objektu.



*Obr. 40: Fáze pokrývání PUR modelu nanovláknem, 1 min a 10 min.*



*Obr. 41: Konečné pokrytí PUR modelu nanovláknny, doba pokrývání 50 min.*

### **3.5. Měření strukturních vlastností**

Prvními testy pro zjištění využitelnosti vytvořených struktur v regenerativní medicíně byly testy strukturních vlastností. Konkrétně se jedná o měření průměru vláken a mezivláknenných prostor pomocí obrazové analýzy. Z takto získaných výsledků lze určit, zda se vytvořené vrstvy strukturně podobají extracelulární tkáňové matici.

#### **3.5.1. Testovací vzorky**

Testovány byly tyto tři vzorky: PCL vrstva vyrobená pomocí spinneru s hroty, PCL vrstva vyrobená pomocí strunového spinneru a PVA vrstva z hladkého spinneru. Všechny tři vrstvy vznikaly pokrýváním PUR modelu chlopně po dobu 50 minut. Následně byl z každého pokrytého modelu odpreparován čtverec vrstvy o straně 5 mm, který byl pokryt vrstvou zlata tenkou 10 nm.

#### **3.5.2. Použitá zařízení**

##### **Rastrovací elektronový mikroskop VEGA TS 5130**

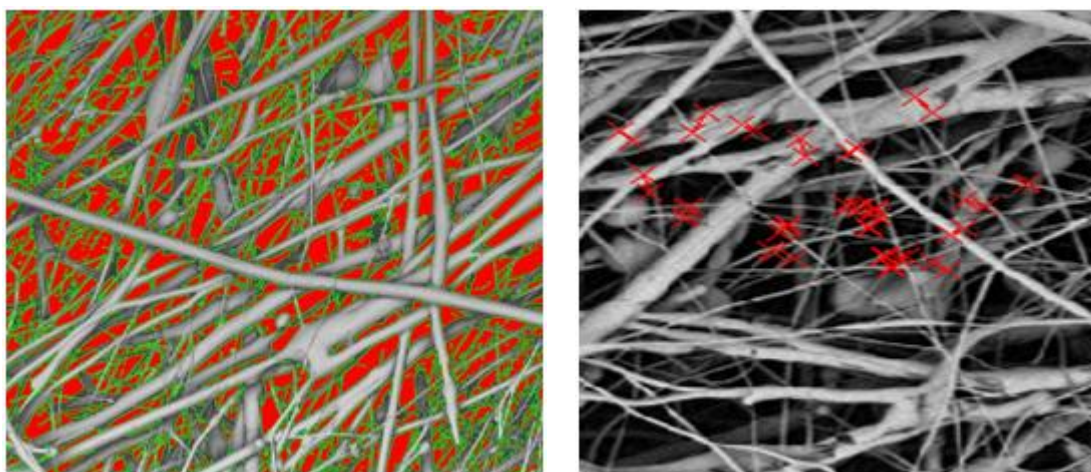
V této práci byl mikroskop použit pro zhotovení snímků výsledných vláknenných vrstev. Kromě názvu „rastrovací“ se používá i označení „skenovací“ nebo „řádkovací“ elektronový mikroskop. Při práci mikroskopu se primární svazek elektronů pohybuje po řádcích po preparátu a vyráží sekundární elektrony, které jsou snímány sondou, převáděny na videosignál a zobrazeny na monitoru počítače. Mikroskop je plně řízen počítačem.

##### **Obrazový analyzátor NIS Elements AR 3.0**

NIS-Elements Advanced Research je program určený pro širší použití v laboratořích, školách a vědeckých ústavech, využívajících při svojí činnosti moderní metody počítačové analýzy obrazu. Nabízí úplné řešení zahrnující snímání obrazu, archivaci i analýzu. Dokáže bezchybně zvládnout snímání a zobrazení vícedimenzionálních obrázků až v šesti dimenzích najednou (X, Y, Z, vlnová délka, čas, multipoint).

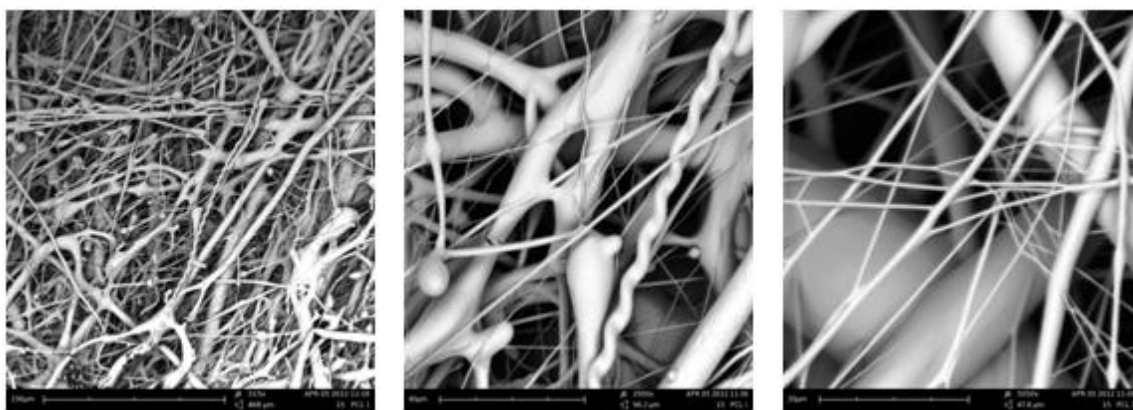
### 3.5.3. Postup měření

Po spuštění programu NIS – Elements a vybrání importování snímku bylo nutné provést kalibraci. Kalibrace přiřazuje snímku reálný rozměr stanovením její jednotky. Většinou byla hodnota velikosti rozlišení snímku v programu již nastavena, tedy stačilo použít příslušnou ikonu. Pomocí funkce měření délky se křížkem označí začátek a konec úsečky. V našem případě délka úsečky stanovovala okraje vlákna a tedy jeho tloušťku. Při měření bylo důležité udržovat určitou kolmost dané úsečky vůči poloze vlákna, abychom zbytečně nevytvářeli odchylky a nezkreslovali tak výsledek (viz. obr. 42). Pro každé měření jednoho vzorku bylo proměřeno 140 vláken z jednoho snímku. Při měření velikosti mezivláknenných prostor byl formát snímku převeden do binární podoby podle světlosti jednotlivých bodů. Tmavý bod – 0, světlý bod – 1. Mezivláknenný prostor se zobrazoval jako soustava tmavých bodů s přiřazenou hodnotou 0 a vlákna jako soustava světlých bodů s hodnotou 1. Pro samotné měření program vyplnil soustavu bodů s hodnotou 0 červenými vektorovými plochami (viz. obr. 42), ze kterých program dopočítal a zaznamenal rozměry jednotlivých prostor. Hodnota kontrastu, při kterém program přiřazoval hodnoty jednotlivým obrazovým bodům, byla 30. Pro všechna měření byly použity snímky z elektronového mikroskopu o zvětšení 500x.

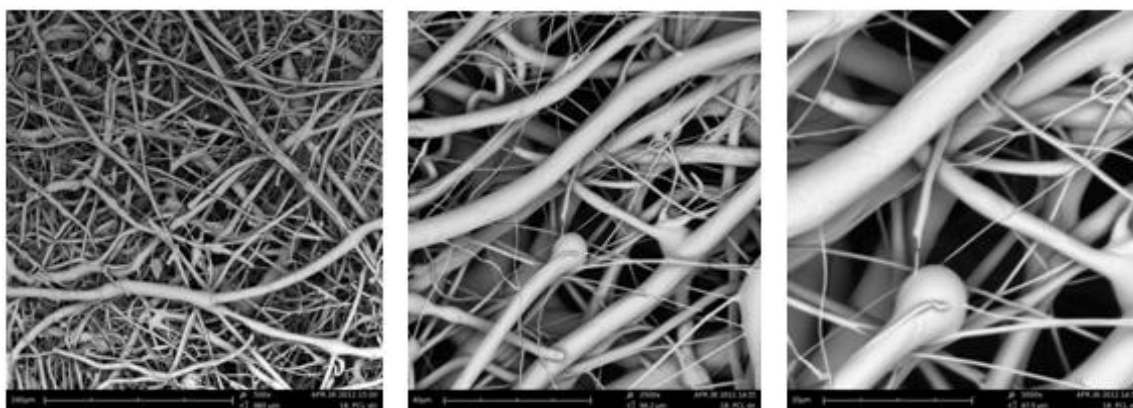


*Obr. 42: Měření průměrů vpravo a mezivláknenných prostor vlevo.*





*Obr. 43: SEM snímky, PCL – spinner s hroty, zvětšení 500x, 2500x, 5000x.*



*Obr. 44: SEM snímky, PCL – strunový spinner, zvětšení 500x, 2500x, 5000x.*

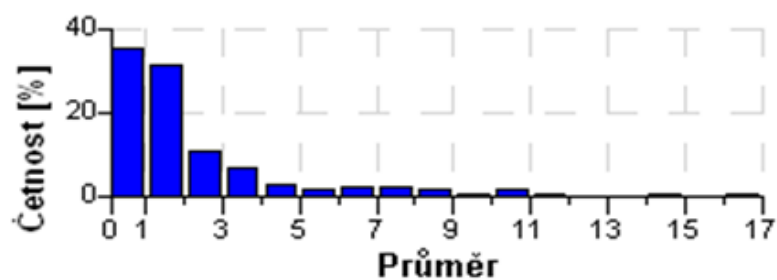


### 3.5.4. Výsledky

#### PCL – spinner s hroty

Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	St. Odchylka [ $\mu\text{m}$ ]	Minimum [ $\mu\text{m}$ ]	Maximum [ $\mu\text{m}$ ]
2,47	2,86	0,31	16,18

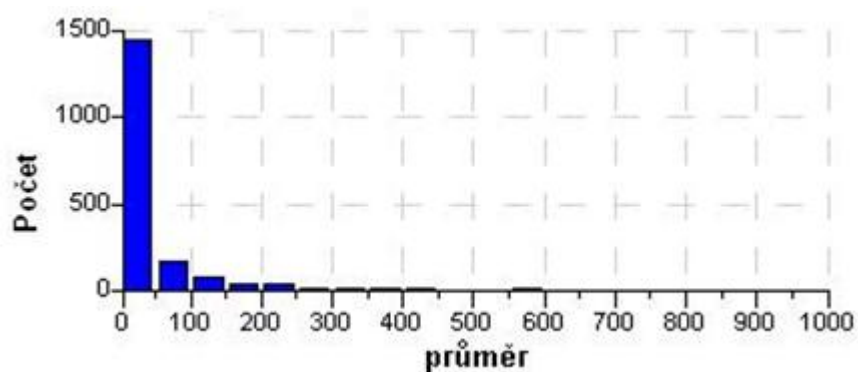
Tab. 3: Naměřené hodnoty průměrů vláken, PCL – spinner s hroty.



Graf 1: Četnost zastoupení jednotlivých tříd průměrů vláken [ $\mu\text{m}$ ].

Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	St. Odchylka [ $\mu\text{m}$ ]	Minimum [ $\mu\text{m}$ ]	Maximum [ $\mu\text{m}$ ]
43,24	95,76	0,21	995,04

Tab. 4: Naměřené hodnoty mezivláčkových prostor, PCL – spinner s hroty.

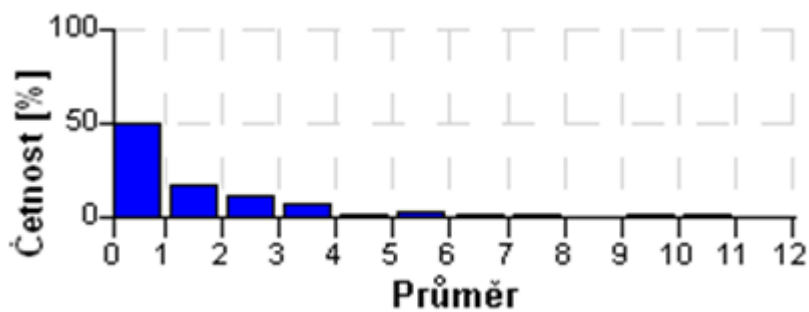


Graf 2: Četnost zastoupení jednotlivých tříd velikostí mezivláčkových prostor [ $\mu\text{m}$ ].

### PCL – strunový spinner

Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	St. Odchylka [ $\mu\text{m}$ ]	Minimum [ $\mu\text{m}$ ]	Maximum [ $\mu\text{m}$ ]
2,07	2,34	0,21	11,27

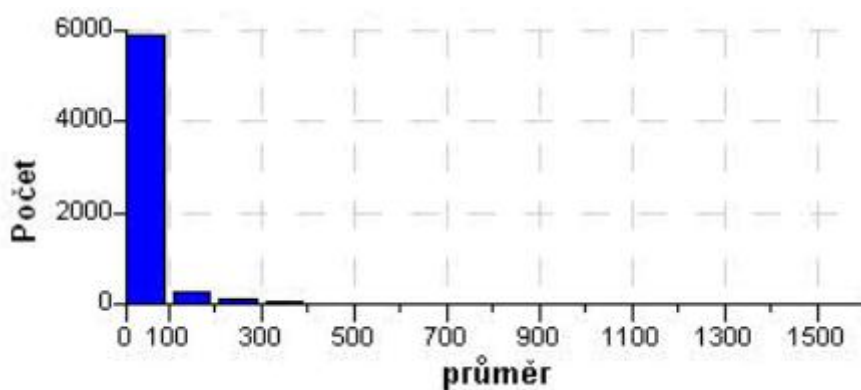
Tab. 5: Naměřené hodnoty průměrů vláken, PCL – strunový spinner.



Graf 3: Četnost zastoupení jednotlivých tříd průměrů vláken [ $\mu\text{m}$ ].

Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	St. Odchylka [ $\mu\text{m}$ ]	Minimum [ $\mu\text{m}$ ]	Maximum [ $\mu\text{m}$ ]
27,36	85,53	0,21	1573,23

Tab. 6: Naměřené hodnoty mezivláčenných prostor, PCL – strunový spinner.



Graf 4: Četnost zastoupení jednotlivých tříd velikostí mezivláčenných prostor [ $\mu\text{m}$ ].

### **3.6. Testy buněčné adheze**

Vytvořená PCL nanovláknenná vrstva na PUR modelu trikuspidální srdeční chlopně byla dále testována v biolaboratoři. Prováděny byly základní testy biokompatibility a buněčné adheze nasazením vhodných buněčných struktur na povrch vláknenné vrstvy. Otestován byl z časových a finančních důvodů pouze jeden vzorek, a to PCL vrstva vytvořená pomocí strunového spinneru, která vykazovala nejvhodnější strukturní vlastnosti.

#### **3.6.1. Použitý buněčný materiál**

Použity byly 3T3 myší fibroblasty. Fibroblast je základní adherentní buňka vazivové tkáně rozptýlená v různých částech organismu. Jedná se o nejméně specializovanou pojivovou buňku. S tím také souvisí skutečnost, že fibroblast se může za určitých podmínek přeměnit na jednu z mnoha dalších pojivových buněk. Má nejčastěji hvězdovitý tvar, složený z výrazných organel, buněčného jádra, vyvinutého endoplazmatického retikula, Golgiho aparátu a mitochondrií. Je velmi snadné je kultivovat v laboratorním prostředí, a proto se hojně používají při základních laboratorních testech.

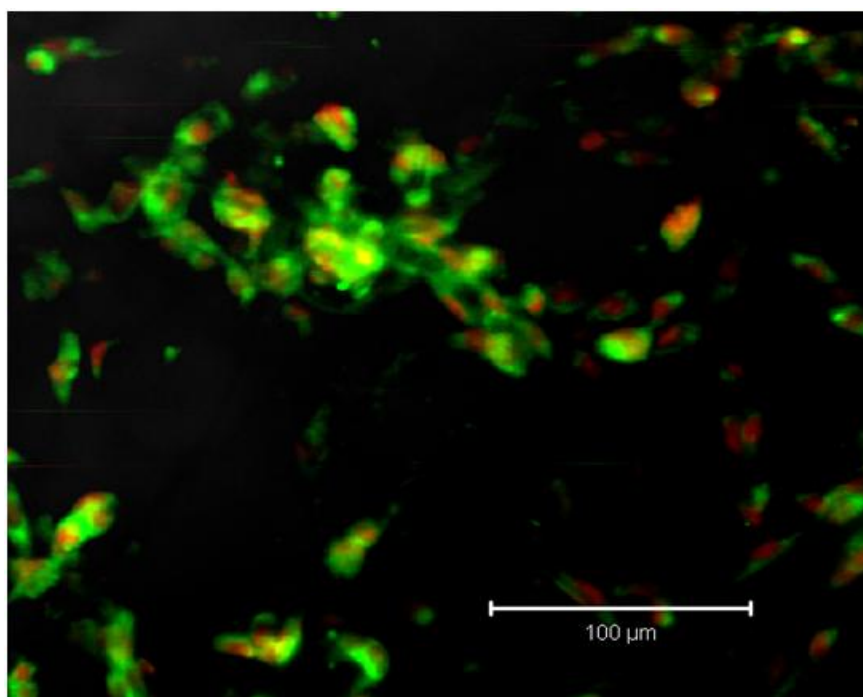
#### **3.6.2. Kultivace a nasazení buněk**

3T3 myší fibroblasty byly kultivovány v D-MEM kultivačním médiu (Dulbeco-modified medium) s přidavkem  $4,5 \text{ g/dm}^3$  glukózy,  $25 \text{ mmol/dm}^3$  hepesu a L glutaminu,  $3,7 \text{ g/dm}^3$  pyruvátu sodného a hydrogenuhličitanu sodného,  $100 \text{ } \mu\text{g/ml}$  streptomycinu,  $100 \text{ U/ml}$  penicilínu a 10% fetálního telecího séra.

Proces probíhal ve sterilní kultivační nádobě. Po dosažení konfluentní vrstvy primokulturních buněk byla provedena takzvaná pasáž, kdy byly buňky enzymaticky rozsuspendované pomocí trypsínu s přidavkem EDTA. Počet buněk se stanovil pomocí Burkerovy komůrky a světelné mikroskopie. Kultivované fibroblasty byly nasazeny na sterilizovaný vzorek tkáňového nosiče v přibližném počtu dvou tisíc, kde tvořily novou buněčnou subkulturu (viz. obr. 45). Nosič byl sterilizovaný v 70 % roztoku ethanolu po dobu 30 minut.

### 3.6.3. Příprava buněk pro konfokální mikroskopii

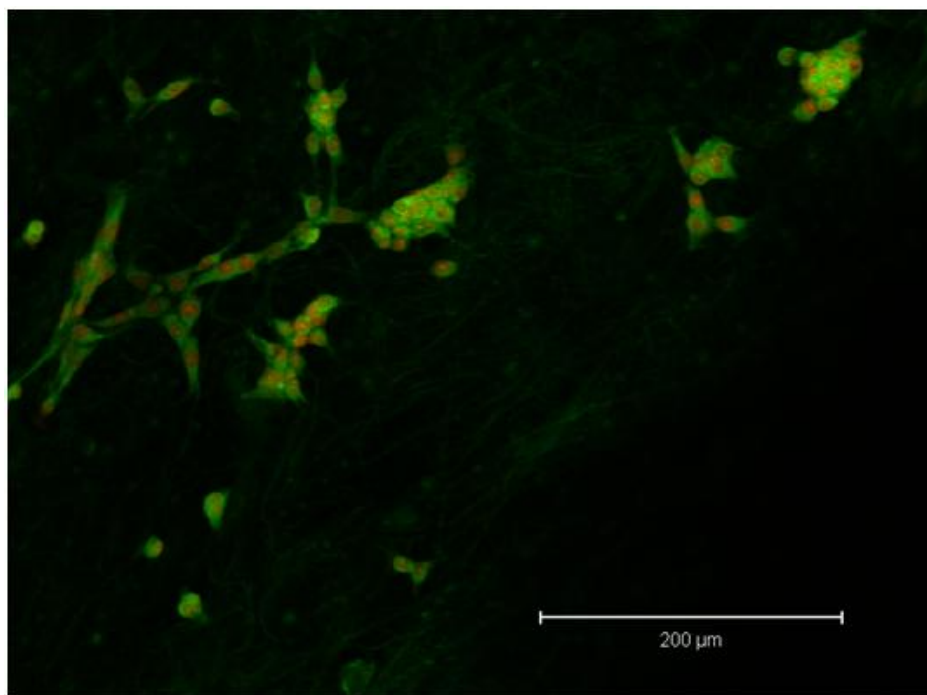
Pro stanovení buněčné adheze byla zvolena optická konfokální mikroskopie, která poskytuje vyšší rozlišení a kontrast vyvolaný potlačením signálu z rovin nad a pod rovinou zaostření. Vizualizace samotných fibroblastů byla realizována pomocí fluoroforové membránové sondy, kdy došlo k obarvení buněk pomocí fluoroforů. Konkrétně 3,3-diethyloxakarbokyaninem jodidu (DIOC6) o koncentraci 1 µg/ml a propidium jodidu o koncentraci 5 µg/ml. Vzorky byly nejprve fixovány pomocí chlazeného methanolu na -20 °C po dobu 10 minut, poté promyty ve fosfátem pufrovaném fyziologickém roztoku (dále jen PBS) a následně pokrývány fluoroforem při inkubační době 45 minut u DIOC6 a 10 minut u propidium jodidu. Následovala další propláchnutí PBS.



*Obr. 45: Snímek subkultury 3T3 myších fibroblastů 3 dny od nasazení, buněčné jádro obarveno červeně a cytoskelet zeleně.*

#### **Pozorování buněčné morfologie**

Po posledním propláchnutí vzorku roztokem PBS proběhlo pozorování morfologie buněčné subkultury 3T3 myších fibroblastů na nosiči konfokálním mikroskopem Zeiss LSM 5. Buňky vykazují na nosiči velmi dobrou adhezi a konfluentní porůstání struktury, což je patrné na obrázku 46. Výsledky potvrzují dobrou tkáňovou biokompatibilitu testovaného nosiče.



*Obr. 46.: Snímek buněčné adheze na vlákenné struktuře nosiče.*

## 4. DISKUSE

Jako nejvhodnější metoda výroby modelu trikuspidální srdeční chlopně určeného pro pokrývání nanovláknů, byla navržena metoda vakuového lití. Nejprve byla zhotovena pro odlití modelu silikonkaučuková forma, jejíž výroba i s vytvrdnutím materiálu trvala 24 hodin. Objemová změna tvaru této formy byla 1 – 2%, což se jeví pro další testy jako vyhovující. Samotný model byl odlit z vysokopevnostního houževnatého polyuretanu, který zaručoval další snadnou manipulaci a případnou úpravu modelu. Lití modelu a následné vytvrdnutí trvalo 9 až 10 hodin. Tento proces se ukázal jako velmi rychlý, variabilní a levný v porovnání s jinými způsoby výroby prototypových modelů a může sloužit jako možná varianta řešení podobného problému v mnoha odvětvích. Z těchto důvodů tento proces zcela nahradil výrobu modelu metodou rapid prototyping.

Právě metoda rapid prototyping se ukázala jako méně ekonomická a konečný návrh geometrie modelu bez chybějící digitalizované geometrie jako velmi pracný a časově náročnější než kolik dovoluje rozsah této práce. Pro tuto metodu byla digitalizována pouze základní geometrie modelu chlopně a provedeny náčrty návrhů jednotlivých tvarů modelu. Rapid prototyping je ovšem perspektivní metoda pro výrobu konkrétní skořepiny modelu, který by byl při sejmutí vlákenné vrstvy rozpuštěn a nebo by byl naopak při ponechání vlákenné vrstvy funkcionalizován.

Navržená technologie pro pokrývání třídimenzionálních struktur nanovláky pomocí usměrněného proudu vzduchu, která využívá linearizovaného vzduchového proudění, se ukázala jako vhodným řešením. Vzniklá vlákenná vrstva dobře kopíruje pokrývaný tvar, pokud tento tvar neobsahuje ostré hluboké drážky a jiné rapidní změny tvaru. Výsledná technologie není vhodná pro pokrývání rovinných ploch a objektů s aerodynamickým odporem vzduchu větším než 0,6. Vhodná je naopak pro tělesa s aerodynamickým odporem nižším než 0,6, nejlépe rotačního tvaru. Technologie je při navržených technologických podmínkách schopna linearizovat přibližně 80 mm široké vzduchové proudění do vzdálenosti 300mm od spinneru. Tyto parametry se mohou v budoucnu měnit upravením geometrie přetlakové trysky nebo přidáním dalších proudů vzduchu, které budou lépe usměrňovat unášený proud nanovláken.

Vlákenná struktura vytvořená pomocí spinneru s hroty vykazovala množství defektů v podobě globulí a nedloužených vláken. Průměrná hodnota průměrů vláken byla 2,47  $\mu\text{m}$ , ovšem 40% z celkového počtu byla vlákna s průměrem menším než 1  $\mu\text{m}$ .

Mezivláknenné prostory měly průměrnou velikost 43,24  $\mu\text{m}$ . Z celkového počtu bylo 75% o velikosti menší než 100  $\mu\text{m}$ . Vláknenná struktura vytvořená pomocí strunového spinneru vykazovala mnohem menší množství strukturních defektů při vyšší homogenitě. Průměrná hodnota průměrů vláken byla 2,07  $\mu\text{m}$ , z toho 51% z celkového počtu byla vlákna s průměrem menším než 1  $\mu\text{m}$ . Průměrná hodnota velikosti mezivláknenných prostor byla 27,36  $\mu\text{m}$ . Z celkového počtu mezivláknenných prostor bylo přes 90% menších než 100  $\mu\text{m}$ . Podle těchto výsledků se jeví jako vhodnější pro výrobu těchto vrstev jednoznačně strunový spinner.

Celkově jsou tyto výsledky základních strukturních parametrů velmi úspěšné. A potvrzují, že mohou být tyto struktury vhodné pro výrobu tkáňových nosičů. Polymerní nanovláknenné vrstvy vytvořené touto technologií vykazují oproti jiným metodám výroby vyšší průměrnou velikost mezivláknenných prostor při velmi vysokém procentuelním zastoupení velikostí pohybujících se kolem 50  $\mu\text{m}$ . Právě průměrná velikost mezivláknenných prostor 20 až 50  $\mu\text{m}$  je vysoce vhodná pro následnou buněčnou adhezi a proliferaci.

Námětem pro další výzkum je určitě použití jiného biokompatibilního polymeru, který bude mít lepší mechanické a biodegradabilní vlastnosti při menších strukturních defektech vláknenné vrstvy.

## 5. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vyvinout a otestovat vhodnou technologii pro funkcionalizaci třídimenzionálních struktur nanovláknů, která vychází z technologie Nanospider<sup>TM</sup> a patentu TUL č. 294274. Dalším úkolem bylo provést návrh výroby modelu trikuspidální srdeční chlopně, který bude sloužit k funkcionalizaci navrženou technologií. Hlavním cílem bylo vytvořené modely pokrýt nanovláknennou vrstvou vybraného biokompatibilního polymeru a tak připravit vzorky pro další testování. Konkrétně se jednalo o stereologické testy vláknenné struktury pomocí obrazové analýzy a biologické testy buněčné adheze. Primárním cílem těchto zkoušek bylo zjistit, zda jsou takto vytvořené vrstvy použitelné jako tkáňový nosič.

Výsledkem experimentu byla navržená technologie, která pomocí vhodného usměrnění proudu vzduchu za vzniku jeho laminárního proudění funkcionalizuje úspěšně třídimenzionální struktury souvislou homogenní nanovláknennou vrstvou. Vrstva velmi dobře kopíruje tvar daného povrchu. Pro výrobu vhodného modelu byl zvolen a popsán příslušný postup. Konkrétně se jednalo o metodu vakuového lití, jež byla pro prototypovou výrobu variabilní, rychlá a finančně dostupná. Výhodou tohoto postupu je možnost použití nepřeberného množství polymerních materiálů. Při výrobě zkušebních vzorků byl navržen a otestován nový spinner, zajišťující tvorbu vrstvy s lepšími strukturními parametry. Vzorky během prvních testů vykázaly velmi dobré mechanické a strukturní vlastnosti. Na základě tohoto zjištění lze tedy konstatovat, že vrstvy splňují požadavky kladené na tkáňové nosiče. Tato skutečnost byla potvrzena následným testováním v biologické laboratoři, při němž byly na vzorek nasazeny buňky vazivové tkáně. Buňky se na nosiči úspěšně množily a konfluentně jej porůstaly při velmi dobré povrchové adhezi.

Technologie se po prvních velmi úspěšných testech na vytvořených vzorcích jeví jako velmi perspektivní a je možno na ní dále navazovat širokou škálou dalších vědeckých postupů. Hlavním přínosem bylo vytvoření třídimenzionální vláknenné vrstvy, která oproti vrstvám vyrobeným jinými způsoby disponuje většími a do jisté míry kontinuálně navazujícími mezivláknennými prostory. O navrženou technologii a vzorky projevila zájem Druhá lékařská fakulta UK a Akademie věd ČR ve spolupráci s tkáňovým institutem v Barceloně.



V současné době probíhá testování nově vyvinutého biokompatibilního polymeru dodaného pracovníky z Akademie věd ČR, který se po zvláknění vyznačuje lepšími mechanickými a strukturními vlastnostmi, než námi použitý PCL. Vytvořené vzorky podstoupí v nejbližší době nové testy biokompatibility na institutu tkáňového inženýrství v Barceloně

Výsledky této práce budou prezentovány na nadcházejícím ročníku mezinárodní konference Autex v chorvatském Zadaru a v odborném článku. Užitečný vzor vycházející z navržené technologie je připravován k přihlášení na patentový úřad.

## 6. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] JOHN, W. a MCCULLOCH P.: THE HISTORY OF THE DEVELOPMENT OF MELT BLOWING TECHNOLOGY. Nonwovens Conference/119, 1999, [online]. [cit. 2012-03-30]. Dostupné z: <http://www.tappi.org/Downloads/unsorted/UNTITLED---NW99109pdf.aspx>
- [2] ZAMFIR, M., MCCULLOCH J. a BEHMAN O.: RECENT DEVELOPMENTS IN SPUNBONDING AND METBLOWING TECHNOLOGIES HAVE SEEN VARIETLY OF INOVATIONS OVER THE YEARS. [online]. June, 2003 [cit. 2012-03-31]. Dostupné z: [http://findarticles.com/p/articles/mi\\_hb6618](http://findarticles.com/p/articles/mi_hb6618)
- [3] RŮŽIČKOVÁ, J.: ELEKTROSTATICKE ZVLÁKŇOVÁNÍ NANOVLÁKEN. Vyd. 1. V Liberci: Technická univerzita, 2004, 54 s. ISBN 80-708-3867-1.
- [4] JIRSÁK, O. a KALINOVÁ, K.: NETKANÉ TEXTILIE. V Liberci: Technická univerzita, 2003.
- [5] ASAHI.: US patent, 3 202 817. Uděleno 1974.
- [6] FORMHALS, A.: US patent, 2 160 962. Uděleno 1939.
- [7] FORMHALS, A.: US patent, 2 187 306. Uděleno 1940.
- [8] WADSWORTH, L. C., MALAKAN, S. R.: A REVIEW OF MELT BLOWING TECHNOLOGY. INB Nonwovens, p. 2, 1991.
- [9] DAHIYA, A.: MELT BLOWN TECHNOLOGY. [online]. University of Tennessee, April 2004 [cit. 2012-04-09]. Dostupné z: <http://www.engr.utk.edu/mse/pages/Textiles/Melt%20Blown%20Technology.htm>
- [10] KALINOVÁ, K.: THERMAL AND CHEMICAL TECHNOLOGIES OF NONWOVENS PRODUCTION. TUL Liberec *Part I* [online]. [cit. 2012-04-09]. Dostupné z: [http://www.ft.vslib.cz/depart/knt/web/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=47&Itemid=36](http://www.ft.vslib.cz/depart/knt/web/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=47&Itemid=36)
- [11] JIRSÁK, O. a WADSWORTH, L.: NONWOVEN TEXTILES. Carolina Academic Press, 1999. ISBN 0-89089-978-8.
- [12] SANJIV, R. MALKAN, L. Wadsworth C.: A REVIEW ON SPUNBOND TECHNOLOGY. Part I', INB, Nonwovens vol.3, 4-14, 1992.
- [13] DAHIYA, A. a KAMATH, G.: SPUNBOND TECHNOLOGY. [online]. University of Tennessee, April 2004 [cit. 2012-04-09]. Dostupné z: <http://www.engr.utk.edu/mse/Textiles/Spunbond%20.html>
- [14] GUPTA, V. B.: MANUFACTURED FIBRE TECHNOLOGY. 1. ed. London [u.a.]: Chapman, 1997. ISBN 04-125-4030-4.

- [15] FORMHALS, A.: US patent, 2 323 025. Uděleno 1943.
- [16] NAKAJIMA, T., KAJIWARA, K. a McINTYRE, J.: EDVANCED FIBER SPINNING TECHNOLOGY. English ed. ed. Cambridge, England: Woodhead, 2007. ISBN 18-557-3182-7.
- [17] RENEKER, D. FONG, H.: POLYMERIC NANOFIBERS. American Chemical Society, New York, 2006
- [18] LUKAS, D. et. al., PHYSICAL PRINCIPLES OF ELECTROSPINNING (ELECTROSPINNING AS A NANO-SCALE TECHNOLOGY OF THE TWENTY-FIRST CENTURY). Textile Progress, Taylor & Francis, Vol. 41, No2, 2009, 59-140, ISBN – 13: 978-0-415-55823-
- [19] TU V LIBERCI: ZPŮSOB VÝROBY NANOVLÁKEN Z POLYMERNÍHO ROZTOKU ELEKTROTATICKÝM ZVLÁKŇOVÁNÍM A ZAŘÍZENÍ K PROVÁDĚNÍ ZPŮSOBU, CZ Patent 294274, 2003-2421.
- [20] HUANG, Z., RAMAKRISHNA, S a ZHANG, Y.: A REVIEW ON POLYMER NANOFIBERS BY ELECTROSPINNING AND THEIR APPLICATIONS IN NANOCOPOSITES. Composites Science and Technology, November 2003, vol. 63, iss. 15, p. 2223-2253.
- [21] CHEW, S. et al.: THE ROLE OF ELECTROSPINNING IN THE EMERGING FIELD OF NANOMEDICINE. *Curr Pharm Des*, [online]. 25.5.2008, 12(36), [cit. 2012-03-26]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2396225/>
- [22] WNEK, G. E., BOWLIN, G. L.: ENCYCLOPEDIA OF: BIOMATERIALS AND BIOMEDICAL ENGINEERING.
- [23] FREED, L. E., VUNJAK-NOVAKOVIC, G., BIRON, R. J., EAGLES, D. B., LANGER, R. and col.: BIODEGRADABLE POLYMER SCAFFOLDS FOR TISSUE ENEGENEERING, *Biotechnology*, Vol. 12 July, pages 689- 693, 1994.
- [24] ASTETE, C. E., SABLIOV, C. M.: SYTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PLGA NANOPARTICLES, *Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition* 17 (3): 247–289. doi:10.1163/156856206775997322. PMID 16689015, (2006)
- [25] LABET, L., MARIANNE K., ThHIELEMANS, B., Wim.: SYNTHESIS OF POLYCAPROLACTONE: A REVIEW". *Chemical Society Reviews* 38: 3484–3504. (2009).
- [26] HERMANOVÁ, S., OMELKOVÁ, J., VOBĚRKOVÁ, S.; BÁLKOVÁ, R., RICHTERA, L., MRAVCOVÁ, L.: Dependence of biodegradation behavior of polycaprolactone film on the way of its preparation. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2011. s. s1022 (s1022 s.) ISSN: 0009-2770.

- [27] HERMANOVÁ, S., VYROUBALOVÁ, Z., VOJTOVÁ, L., CABRERA, M.: NOVEL TRIAZOLE-BASED ALUMINIUM COMPLEX FOR RING- OPENING POLYMERIZATION OF LACTONES, Polymer Bulletin, 2011, roč. 67, č. 9, s. 1751-1760. ISSN: 0170- 0839.
- [28] MIDDLETON, J. C., ARTHUR, T.: SYNTHETIC BIODEGRADABLE POLYMERS AS MEDICAL DEVICES, [online] [cit. 10.4. 2012]. Dostupné z: <http://www.devicelink.com/mpb/archive/98/03/002.html>
- [29] KREBSOVÁ, M.: NAUKA O POLYMERECH. 1. vydání. Liberec: Vysoká škola strojní a textilní, 1979. 223s. Číslo publikace 55-817-79.
- [30] DUCHÁČEK V.: POLYMERY - VÝROBA, VLASTNOSTI, ZPRACOVÁNÍ, POUŽITÍ. 2. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2006. ISBN 80-7080-617-6
- [31] LIU, C., XIA, Z., CZERNUSZKA, J.T.: DESUGN AND DEVELOPMENT OF THREE DIMENSIONAL SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGENEERING, Chemical Engineering Research and Design, Vol. 85, No. 7. (2007)
- [32] BROWN, P.J., STEVENS, K.: NANOFIBERS AND NANOTECHNOLOGY IN TEXTILES, Woodhead Publishing (2007)
- [33] Kolektiv autorů: LÉKAŘSKÉ TEXTILIE, 1. a 2. díl, Centrum pro podporu konkurenceschopnosti v biomedicínských technologiích, Vydala Asociace inovačního podnikání ČR
- [34] EBERLI, D.: TISSUE ENGENEERING. Rijeka, Croatia: Intech, 2010. ISBN 978-953-3070-797.
- [35] FEYNMAN, R.: FEINMANOVY PŘEDNÁŠKY Z FYZKY S ŘEŠENÝMI PŘÍKLADY 2/3. 1. vyd. Havlíčkův Brod: Fragment, 2001, 806 s. ISBN 80-720-0420-4.